(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년08월22일
(11) 등록번호 10-2569534
(24) 등록일자 2023년08월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 36/185* (2006.01) *A61K 31/352* (2006.01)
*A61P 29/00* (2023.01) *A61P 3/04* (2006.01)
*B01D 11/02* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 36/185* (2013.01)
*A61K 31/352* (2023.05)
(21) 출원번호 10-2019-7012346
(22) 출원일자(국제) 2017년09월28일
심사청구일자 2020년09월15일
(85) 번역문제출일자 2019년04월29일
(65) 공개번호 10-2019-0084036
(43) 공개일자 2019년07월15일
(86) 국제출원번호 PCT/IL2017/051099
(87) 국제공개번호 WO 2018/061009
국제공개일자 2018년04월05일
(30) 우선권주장
248150 2016년09월29일 이스라엘(IL)
(56) 선행기술조사문헌
JP2009514890 A*
WO2016064987 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
**이슘 리서치 디벨롭먼트 컴퍼니 오브 더 히브루 유니버시티 오브 예루살렘, 엘티디.**
이스라엘, 9139002 예루살렘, 피.오.박스 39135
(72) 발명자
**가르티, 니심**
이스라엘, 라마트 하샤론 4723127, 하프라침 스트리트 13
**가르티 레비, 샤론**
이스라엘, 모디'인 7173871, 하임 바-레브 스트리트 35/2
**에드리, 로템**
이스라엘, 에일라트 8826222, 미솔 타푸즈 스트리트 8
(74) 대리인
**허용록**

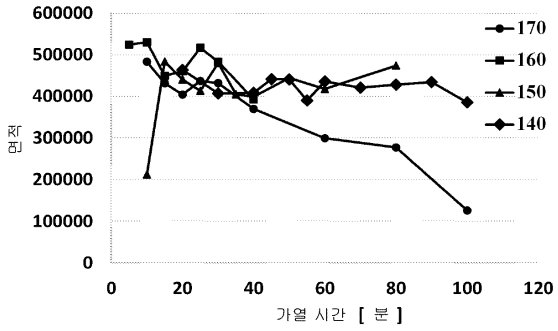
전체 청구항 수 : 총 8 항 심사관 : 민경난

(54) 발명의 명칭 **식물 공급원으로부터 칸나비노이드의 선택적 추출 방법**

## (57) 요 약

본 발명은 맞춤형 추출 매질을 이용하여 식물 공급원으로부터 칸나비노이드, 예를 들어 칸나비디올 (CBD)의 선택적 추출 방법을 제공한다.

*대 표 도* - 도1



(52) CPC특허분류
***A61P 29/00*** (2023.02)
***A61P 3/04*** (2018.01)
***B01D 11/0288*** (2013.01)
*A61K 2236/10* (2013.01)
*A61K 2236/30* (2013.01)

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

식물 공급원으로부터 칸나비노이드의 추출 방법으로서, 상기 방법은

(a) 칸나비노이드-함유 식물 공급원의 제 1의 양 및 물이 없는 마이크로에멀젼 형태의 추출 매질의 제 1의 양을 포함하는 제 1 혼합물을 얻는 단계로서,

상기 추출 매질은

0.5 내지 20 wt%의 양의 적어도 하나의 오일로서, 적어도 하나의 오일은 R-(+)-리모넨인 것을 특징으로 하는, 적어도 하나의 오일,

30 내지 85 wt%의 양의 적어도 하나의 친수성 계면활성제로서, 적어도 하나의 친수성 계면활성제는 폴리소르베이트 80 (Tween 80)인 것을 특징으로 하는, 적어도 하나의 친수성 계면활성제,

1 내지 50 wt%의 양의 적어도 하나의 공-계면활성제로서, 적어도 하나의 공-계면활성제는 프로필렌 글리콜인 것을 특징으로 하는, 적어도 하나의 공-계면활성제, 및

0.1 내지 25 wt%의 양의 적어도 하나의 용매로서, 적어도 하나의 용매는 에탄올인 것을 특징으로 하는, 적어도 하나의 용매

를 포함하는, 단계;

(b) 500 내지 5,000 psi의 압력에서 제 1 혼합물을 균질화하는 단계; 및

(c) 균질화된 제 1 혼합물을 바이오매스 슬러리 및 마이크로에멀젼 형태의 칸나비노이드-담지된 매질로 분리하는 단계를 포함하는, 방법.

### 청구항 2

제 1항에 있어서, 칸나비노이드는 칸나비디올 (CBD)이고, 칸나비노이드-담지된 매질은 0.1 내지 12 wt%의 CBD를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

### 청구항 3

제 1항에 있어서, 식물 공급원은 적어도 CBD 및 테트라히드로칸나비놀 (THC)을 포함하고, 사용된 바이오매스는 THC가 농축되고, CBD-담지된 매질은 최대 3 wt%의 THC를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

### 청구항 4

제 1항에 있어서, 단계 (b)의 균질화는

(i) 1분 내지 60분 동안 수행되고;

(ii) 5 내지 70 ℃의 온도에서 수행되는 것 중 적어도 하나를 특징으로 하는, 방법.

### 청구항 5

제 1항에 있어서, 단계 (a) 전에, 식물 공급원의 가열 단계를 더 포함하는, 방법.

### 청구항 6

제 1항에 있어서, 식물 공급원 대 상기 추출 매질의 제 1의 양의 중량비 (wt/wt)는 1:5 내지 1:100인 것을 특징으로 하는, 방법.

### 청구항 7

제 1항에 있어서,

(I)(d) 바이오매스 슬러리를 추출 매질의 제 2의 양과 혼합하여 제 2 혼합물을 얻는 단계;

(e) 제 2 혼합물을 균질화하는 단계; 및

(f) 제 2 혼합물을 바이오매스 슬러리 및 칸나비노이드-담지된 매질로 분리하는 단계; 또는

(II) (d') 칸나비노이드-담지된 매질을 식물 공급원의 제 2의 양과 혼합하여 제 2 혼합물을 얻는 단계;

(e') 제 2 혼합물을 균질화하는 단계; 및

(f') 제 2 혼합물을 바이오매스 슬러리 및 고도로 칸나비노이드-담지된 매질로 분리하는 단계로서, 칸나비노이드는 칸나비디올 (CBD)인 것을 특징으로 하는, 단계;

를 더 포함하는, 방법.

**청구항 8**

삭제

**청구항 9**

제 1항에 있어서, 추출 매질은 1 내지 10 wt%의 양의 적어도 하나의 인지질을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.

**청구항 10**

삭제

**청구항 11**

삭제

**청구항 12**

삭제

**청구항 13**

삭제

**청구항 14**

삭제

**청구항 15**

삭제

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

삭제

**청구항 18**

삭제

**청구항 19**

삭제

**청구항 20**

삭제

**청구항 21**

삭제

**청구항 22**

삭제

**청구항 23**

삭제

**청구항 24**

삭제

**청구항 25**

삭제

**청구항 26**

삭제

**청구항 27**

삭제

**청구항 28**

삭제

**청구항 29**

삭제

**청구항 30**

삭제

**청구항 31**

삭제

**청구항 32**

삭제

**청구항 33**

삭제

**청구항 34**

삭제

**청구항 35**

삭제

**청구항 36**

삭제

**청구항 37**

삭제

**청구항 38**

삭제

**청구항 39**

삭제

**청구항 40**

삭제

**청구항 41**

삭제

**청구항 42**

삭제

**청구항 43**

삭제

**청구항 44**

삭제

**청구항 45**

삭제

**청구항 46**

삭제

**청구항 47**

삭제

**청구항 48**

삭제

**청구항 49**

삭제

**청구항 50**

삭제

**청구항 51**

삭제

**청구항 52**

삭제

**청구항 53**

삭제

## 발명의 설명

### 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 맞춤형 추출 매질을 이용하여 식물 공급원으로부터 칸나비노이드, 예를 들어 칸나비디올(cannabidiol; CBD)의 선택적 추출 방법을 제공한다.

### 배 경 기 술

[0002] 칸나비노이드는 특히 통증 및 염증성-관련 증후군, 경련(spasms), 천식, 수면 장애, 우울증, 식욕 부진 및 기타 질병의 완화에 수년 동안 사용되어 왔다. 칸나비노이드는 칸나비스 식물의 수지-생성 암꽃차례(pistillate inflorescence)에서 주로 발견되는 활성 화합물의 군이다. 지금까지 다양한 칸나비노이드 화합물이 문헌에서 확인되었지만, 특히 2개의 화합물이 의약 용도의 주요 관심 대상이었다: 테트라히드로칸나비놀(tetrahydrocannabinol; THC) 및 칸나비디올(CBD).

[0003] THC는 사용자에게 오래 지속되는 부작용이 있는 향정신성 화합물이지만, CBD는 향정신제로 간주되지 않으며 다양한 투여 경로에서 소비에 안전하다고 간주된다. 두 화합물은 일반적으로 다양한 농도 범위에서 식물 공급원에서 혼합물로 발견된다. 약학 조성물로 제형화하기 위해, 칸나비노이드는 종종 다양한 방법에 의해 식물 공급원으로부터 추출된다.

[0004] 상용되는 방법 중 하나는 담체 오일이 식물 공급원으로부터 칸나비노이드 종의 추출을 위한 용매로서 사용되는, 담체 오일에 의한 추출이다. 꽃차례의 오일-가득한 모용(oil-filled trichomes)은 지용성이기 때문에, 천연 식물 오일은 칸나비노이드-포함한 수지 및 식물의 다른 부분으로부터 칸나비노이드 종의 혼합물을 추출하는데 효과적인 방법이다.

[0005] 종종 사용되는 또 다른 방법은 칸나비노이드를 용해시킬 수 있는 유기 용매에 의한 추출이다. 이러한 추출은 효과적인 추출을 위한 용매의 맞춤을 필요로 하며, 종종 낮은 수율의 추출을 야기한다. 또한, 최종 생성물로부터 미량의 용매를 제거하는 것이 어렵고, 결과로 생긴 추출물의 순도 및 안전성을 감소시킨다. 이러한 추출의 대부분은 불충분한 것으로 밝혀졌으며, (특히 석유 에테르가 사용되는 경우) 종종 바람직하지 않은 용매의 흔적을 남긴다.

[0006] 다양한 식물 공급원으로부터 다양한 화합물의 추출을 얻는데 사용되는 추가 방법은 초-임계 $CO_2$ 추출이다. $CO_2$ 추출 방법에서, 초-임계 조건 (즉, 고온 및 고압)에서의 $CO_2$가 칸나비노이드 종의 추출에 사용된다. 식물 공급원으로부터 다양한 화합물을 추출하는데 비교적 효과적이지만, 이 기법은 액체 추출에 비해 종종 더 복잡하고, 시간이 많이 소요되며, 매우 비싸다. 또한, 이 기법은 특정 칸나비노이드에 대해 선택하기는 커녕, 다양한 정유(essential oils)를 동시에 추출할 수도 있다.

[0007] 칸나비노이드의 추출을 위한 다양한 방법이 존재하지만, 이들 모두는 낮은 추출 수율 및 낮은 (또는 없는) 선택도의 공통적인 단점을 가진다. 즉, 지금까지 알려진 추출 방법은 식물 공급원으로부터 다양한 종의 칸나비노이드를 추출하고, 종종 다양한 농도 및 비의 CBD 및 THC의 혼합물을 야기하여, 약학 조성물에서 CBD의 후속 제형 및 사용을 방해한다.

[0008] 따라서, 칸나비노이드-함유 식물 공급원의 혼합물로부터 많은 담지량의 특정 칸나비노이드, 예를 들어 CBD를 얻기 위한 고도의 선택적 추출 방법에 대한 필요성이 존재한다.

[0009] 현재 개시된 주제에 대한 배경 지식과 관련된 것으로 간주되는 참고 문헌은 하기에 열거된다:

### 선행기술문헌

### 특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) WO 2008/058366

### 비특허문헌

[0011] (비특허문헌 0001) A. Spernath, A. Aserin, Advances in Colloid and Interface Science 2006, 128

(비특허문헌 0002) A. Spernath, A. Aserin, N. Garti, Journal of Colloid and Interface Science 2006, 299, 900-909

(비특허문헌 0003) A. Spernath, A. Aserin, N. Garti, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2006, 83

(비특허문헌 0004) N. Garti, A. Spernath, A. Aserin, R. Lutz, Soft Matter 2005, 1

(비특허문헌 0005) A. Spernath, A. Aserin, L. Ziserman, D. Danino, N. Garti, Journal of Controlled Release 2007, 119

(비특허문헌 0006) S. Fisher, E.J. Wachtel, A. Aserin, N. Garti, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2013, 107, 35-42

(비특허문헌 0007) R. Deutch-Kolvzon, A. Aserin and N. Garti, Chemistry and Physics of Lipids 2011, 164(7), 654

(비특허문헌 0008) O. Amsalem, A. Aserin, N. Garti, Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces 2010, 81(2), 422-429.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0012] 본 명세서에서 상기 참고 문헌의 확인은 이들이 현재 개시된 주제의 특허성에 어떤 식으로든 관련되어 있음을 의미하는 것으로 추론되어서는 안된다.

[0013] CBD와 같은 특정 칸나비노이드에 대한 높은 선택도는 맞춤형 추출 매질을 이용한 고유한 원-팟(one-pot) 추출 방법의 사용에 의해 본 발명에서 제공된다. 본 명세서에서 더 상세히 설명되는 바와 같이, 본 발명의 방법은 낮은 수준의 다른 칸나비노이드, 특히 THC를 갖는 바람직한 칸나비노이드 (예를 들어, CBD)를 고도로 담지한 생성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 바람직한 칸나비노이드의 선택적 추출을 가능하게 하는 추출 매질 제형, 및 다양한 약학 조성물 및 이를 포함하는 투여 형태를 제공한다.

[0014] 하나의 측면에서, 본 발명은 식물 공급원으로부터 칸나비노이드, 예를 들어 칸나비디올 (CBD)의 추출 방법을 제공하며, 상기 방법은

[0015] (a) 칸나비노이드-함유 (예를 들어, CBD-함유) 식물 공급원의 제 1의 양 및 추출 매질의 제 1의 양을 포함하는 제 1 혼합물을 얻는 단계로서, 상기 추출 매질은 적어도 하나의 오일, 적어도 하나의 친수성 계면활성제 및 적어도 하나의 공-계면활성제(co-surfactant)를 포함하고, 임의로 적어도 하나의 공-용매(co-solvent)를 포함하는, 단계;

[0016] (b) 제 1 혼합물을 균질화하는 단계; 및

[0017] (c) 균질화된 혼합물을 바이오매스 슬러리 및 칸나비노이드 (예를 들어, CBD)-담지된 매질로 분리하는 단계를 포함한다.

[0018] 칸나비노이드의 추출 매질로서 마이크로에멀젼을 이용한 본 발명의 방법은, 식물 공급원으로부터 바람직한 칸나비노이드의 선택적 추출에 맞게 조정될 수 있다. 하기에서 더 설명되는 바와 같이, 추출 매질은, 예를 들어 주로 CBD, 주로 THC 또는 식물 공급원에 존재하는 다른 칸나비노이드의 추출에 맞게 조정될 수 있다. 마이크로에

멀젼 (MEs)은 이들의 자발적 형성, 높은 가용화 능력, 낮은 점도, 투명도, 뉴턴 거동(Newtonian behavior) 및 물리적 열역학 안정성 때문에 잘 알려진 약물 전달용 비히클이다 [1]. 특정 유형의 마이크로에멀젼은 이전에 연구된 나노-크기의 자기-조립 액체이고, 비-가용성 약물과 기능 식품(nutraceuticals)을 가용화시키는 이들의 능력이 입증되었다 [2-7]. 추출 매질은 계면활성제 및 오일을 포함하는 나노액적(nanodroplets)의 자기-조립 마이크로에멀젼 시스템이다. 본 명세서에서 더 설명되는 바와 같이, 본 발명의 추출 매질은 적어도 하나의 오일, 적어도 하나의 친수성 계면활성제 및 적어도 하나의 용매를 포함하고, 공-계면활성제, 공-용매 및 인지질과 같은 추가 성분을 더 포함할 수 있다. 본 발명에서, 용어 ***마이크로에멀젼(들)***은, 달리 정의되지 않는 한, 추출 매질을 나타낼 것이다. 용어 "*마이크로에멀젼*" 및 "*추출 매질*"은 혼용될 것이다.

[0019] 추출 매질은 수상으로 완전히 점진적으로 희석되어 팽윤된 미셀 시스템 또는 수-중-유(oil-in-water) 마이크로에멀젼을 형성할 수 있는 물-없는 농축물의 형태일 수 있다. ***희석된 마이크로에멀젼*** (***희석 매질***)은 나노-크기의 균일한 (단-분산) 구조이며, 유상과 수상 사이의 제로 계면 장력(zero interfacial tension)을 나타내고, 뉴톤 유체(Newtonian fluids)와 같이 행동한다. 매질은 계면활성제와 오일이 혼합할 때 자기-조립되어 물-없는 역 미셀(reverse micelles)을 형성한다. 물 또는 수용액으로 희석 시, 물-팽윤된 미셀 또는 유-중-수(water-in-oil) 나노액적이 형성되어 수상, 예를 들어 물의 존재 하에 이중연속 메조상(bicontinuous mesophases)으로 전도될 수 있다. 추가 희석 시, 이들은 수-중-유 액적으로 (우산형) 전도된다.

[0020] 이론에 얽매이지 않고, 이러한 시스템은 오일-용매화된 클러스터 또는 계면활성제의 짧은 도메인으로 구성되지만, 고전적인 역 미셀과는 다르다. 소량의 수성 매질과 혼합될 때 수화되고 용매화된 계면활성제가 형성되고, 수상으로 추가 희석 시 이들은 추출된 칸나비노이드 분자를 이들의 코어로 포획하는 수-중-유 (O/W) 나노액적으로 쉽게 변환된다. O/W 마이크로에멀젼으로의 변환은 자발적이다, 즉, 전단력, 기계력 또는 과도한 가열 조건을 사용할 필요가 없다. CBD 및/또는 다른 추출된 칸나비노이드는 역 미셀의 코어에 포획되어 이중연속 영역에서 희석 시 유상과 수상 사이의 계면에 남아 있다; 이후, 일단 O/W 마이크로에멀젼이 형성되면, 칸나비노이드 분자는 액적의 코어에 위치하게 된다. CBD 및 계면활성제 (및 공-계면활성제, 사용 시) 간의 상호작용 (물리적 착화)은, 역 미셀의 구조적 변환을 통해 오일 코어 내에 추출된 칸나비노이드를 이중연속 영역으로 및 최종적으로 O/W 마이크로에멀젼으로 유지시켜, 제형을 안정화시키고 이의 투여 전에 (즉, 저장 동안) 오일 코어로부터 칸나비노이드의 바람직하지 않은 방출을 방지할 수 있다.

[0021] 이러한 추출 매질은 나노-크기의 액적과 함께 열역학적으로 안정하며, 크리밍(creaming), 응집, 유착(coalescence) 또는 상분리 없이, 장기간 동안 안전하게 저장될 수 있다. 또한, 본 발명의 방법에 의해 제조된 칸나비노이드-담지된 매질은 실질적으로 균일하고 안정한 액적 크기, 일반적으로는 나노미터 규모 및 좁은 크기 분포를 갖는 것을 특징으로 한다. 일단 마이크로에멀젼이 투여되면, 액적 크기의 변화가 액적 내의 포획된 (가용화된) 추출된 분자의 방출을 손상시킬 수 있기 때문에, 액적 크기의 안정성은 중요하다. 또한, 담지된 매질은, 희석된 형태가 아닌 경우, 물이 없기 때문에, 미생물 성장을 지지하지 못한다 (또는 최소화한다). 또한, 이들 시스템은 이들의 높은 안정성 및 작은 액적 크기로 인해, 가열 멸균, 0.22um 여과기를 통한 여과, UV 및 당해 기술분야에 알려진 다른 방법과 같은 다양한 방법으로 자기-오염의 위험 없이, 그리고 매질의 유익한 구조를 손상시키지 않고 멸균될 수 있다.

[0022] 본 발명에서, 식물 공급원으로부터 특정의 바람직한 칸나비노이드 (예를 들어, CBD, CBDA, THC 등)를 추출하기 위해 시스템을 (즉, 계면활성제, 오일 및 공-계면활성제의 조성물을 선택하여) 설계하여, 칸나비노이드-담지된 매질이 실질적으로 물을 함유하지 않도록 하고 (즉, 최대 10 wt% 물 함유), "요구에 따라" 및 임의의 유형의 수용액 (완충제, 주사용수, 식염수, 등장성 혼합물 등)으로 적용 또는 투여 경로에 따라 쉽게 희석되거나 또는 더 제형화될 수 있다.

[0023] ***칸나비노이드***는 뇌에서 신경전달물질(neurotransmitter) 방출을 억제하기 위해 세포에서 칸나비노이드 수용체에 대한 활성을 갖는 향정신성 및 비-향정신성 화합물의 군이다. 용어는 천연 공급원으로부터 얻어진 칸나비노이드를 포함하는 것을 의미한다. 칸나비노이드는 칸나비게롤릭산 (cannabigerolic acid; CBGA), 칸나비게롤릭산 모노메틸에테르 (cannabigerolic acid monomethylether; CBGAM), 칸나비게롤 (cannabigerol; CBG), 칸나비게롤 모노메틸에테르 (cannabigerol monomethylether; CBGM), 칸나비게로바리닉산 (cannabigerovarinic acid; CBGVA), 칸나비게로바린 (cannabigerovarin; CBGV), 칸나비크로메닉산 (cannabichromenic acid; CBCA), 칸나비크로멘 (cannabichromene; CBC), 칸나비크로메바리닉산 (cannabichromevarinic acid; CBCVA), 칸나비크로메바린 (cannabichromevarin; CBCV), 칸나비디올릭산 (cannabidiolic acid; CBDA), 칸나비디올 (cannabidiol; CDB), 칸나비디올 모노메틸에테르 (cannabidiol monomethylether; CBDM), 칸나비디올-$C_4$ (CBD-$C_4$), 칸나비디바

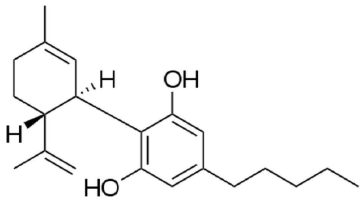
리닉산 (cannabidivarinic acid; CBDVA), 칸나비디오르콜 (cannabidiorcol; CBD-$C_1$), 델타-9-테트라히드로칸나비놀릭산 A (delta-9-tetrahydrocannabinolic acid A; THCA-A), 델타-9-테트라히드로칸나비놀릭산 B (THCA-B), 델타-9-테트라히드로칸나비놀 (delta-9-tetrahydrocannabinol; THC), 델타-9-테트라히드로칸나비놀릭산-$C_4$ (THCA-$C_4$), 델타-9-테트라히드로칸나비놀-$C_4$ (THCA-$C_4$), 델타-9-테트라히드로칸나비바리닉산 (delta-9-tetrahydrocannabivarinic acid; THCVA), 델타-9-테트라히드로칸나비바린 (delta-9-tetrahydrocannabivarin; THCV), 델타-9-테트라히드로칸나비오르콜릭산 (delta-9-tetrahydrocannabiorcolic acid; THCA-$C_1$), 델타-9-테트라히드로칸나비오르콜 (delta-9-tetrahydrocannabiorcol; THC-$C_1$), 델타-7-cis-이소-테트라히드로칸나비바린, 델타-8-테트라히드로칸나비놀릭산 A ($\triangle^8$-THCA), 델타-8-테트라히드로칸나비놀 ($\triangle^8$-THC), 칸나비시클롤릭산 (cannabicyclolic acid; CBLA), 칸나비시클롤 (cannabicyclol; CBL), 칸나비시클로바린 (cannabicyclovarin; CBLV), 칸나비엘소익산 A (cannabielsoic acid A; CBEA-A), 칸나비엘소익산 B (CBEA-B), 칸나비엘소인 (cannabielsoin; CBE), 칸나비놀릭산 (cannabinolic acid; CBNA), 칸나비놀 (cannabinol; CBN), 칸나비놀 메틸 에테르 (cannabinol methylether; CBNM), 칸나비놀-$C_4$ (CBN-$C_4$), 칸나비바린 (cannabivarin; CBV), 칸나비놀-$C_2$ (CBN-$C_2$), 칸나비오르콜 (cannabiorcol; CBN-$C_1$), 칸나비노디올 (cannabinodiol; CBND), 칸나비노디바린 (cannabinodivarin; CBVD), 칸나비트리올 (cannabitriol; CBT), 10-에톡시-9-히드록시-델타-6a-테트라히드로칸나비놀, 8,9-디히드록시-델타-6a-테트라히드로칸나비놀, 칸나비트리올바린 (cannabitriolvarin; CBTV), 에톡시-칸나비트리올바린 (CBTVE), 데히드로칸나비퓨란 (dehydrocannabifuran; DCBF), 칸나비퓨란 (CBF), 칸나비크로마논 (cannabichromanon; CBCN), 칸나비시트란 (cannabicitran; CBT), 10-옥소-델타-6a-테트라히드로칸나비놀 (OTHC), 델타-9-cis-테트라히드로칸나비놀 (cis-THC), 3,4,5,6-테트라히드로-7-히드록시-α-α-2-트리메틸-9-n-프로필-2,6-메타노-2H-1-벤즈옥소신-5-메탄올 (OH-iso-HHCV), 칸나비리프솔 (cannabiripsol; CBR), 트리히드록시-델타-9-테트라히드록시칸나비놀 (triOH-THC), 및 임의의 기타 칸나비노이드 중 하나 이상으로부터 선택될 수 있다.

[0024] 일 실시예에서, 바람직한 칸나비노이드는 CBD 또는 CBDA 이다.

[0025] 일 실시예에서, CBD는 다양한 칸나비노이드의 혼합물을 포함하는 식물 공급원으로부터 선택적으로 추출된다.

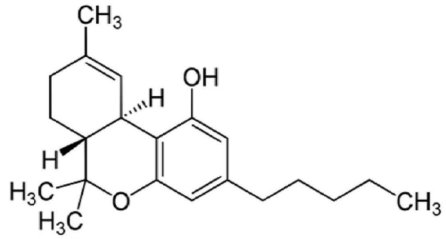
[0026] ***칸나비디올*** (CBD)은 본 명세서에서 분자식 $C_{21}H_{30}O_2$ 및 화학식 I의 일반 구조를 갖는, CB1 및 CB2 수용체에 대해 친화도가 거의 없는 비-향정신성 칸나비노이드의 종류를 나타낸다:

[0027] **[화학식 I]**

[0028] 


[0029] ***테트라히드로칸나비놀*** (THC)은 본 명세서에서 분자식 $C_{21}H_{30}O_2$ 및 화학식 II의 일반 구조를 갖는, CB1 및 CB2 수용체에 대해 높은 친화도를 특징으로 하는 향정신성 칸나비노이드의 종류를 나타낸다:

[0030] **[화학식 II]**

[0031] 


[0032] 본 발명의 문맥에서, 용어 CBD 및 THC는 (-)-트랜스-△9-테트라히드로칸나비놀 (△9-THC), △8-THC, 및 △9-CBD와 같은 이들 분자의 이성질체, 유도체 또는 전구체, 및 이들의 각각의 2-카복실산 (2-COOH)인 CBDA 및 THCA로

부터 유도된 CBD 및 THC도 포함하는 것을 의미한다.

[0033] 상기한 바와 같이, 본 발명의 방법은 일 실시예에서 주로 CBD 및 THC를 포함하는 식물 공급원으로부터의 CBD와 같은 칸나비노이드의 선택적이고 정량적인 추출을 가능하게 한다. 용어 ***선택적으로*** 또는 ***선택적 추출***은 상기 방법이 바람직하지 않은 칸나비노이드의 존재가 거의 없거나 또는 전혀 없는, 바람직한 칸나비노이드가 고도로 농축된 추출 생성물을 얻는 것을 허용한다는 것을 의미한다.

[0034] 일 실시예에서, 방법 및 추출 매질은 CBD-담지된 매질이 3 wt% 이하의 THC를 함유하도록, CBD를 선택적으로 추출하도록 맞게 조정된다. 다른 실시예에서, 방법 및 추출 매질은 CBD-담지된 매질이 1 wt% 이하의 THC를 함유하도록, CBD를 선택적으로 추출하도록 맞게 조정된다. 즉, 본 발명의 방법의 생성물은, 일 실시예에 의해, (즉, 추출의 결과로서) THC가 농축된 사용된 바이오매스 및 최대 3 wt%, 최대 2.5 wt%, 최대 2 wt%, 최대 1.5 wt%, 최대 1 wt% THC, 최대 0.8 wt% THC, 최대 0.6 wt% THC, 최대 0.5 wt% THC, 또는 심지어 최대 0.1 wt% THC를 포함하는 CBD-담지된 매질이다. wt% THC가 (식물 공급원 내의 THC 함량이 아닌) 추출된 칸나비노이드의 THC의 중량 백분율을 나타낸다는 것을 유의해야 한다.

[0035] 다른 실시예에 따르면, 매질의 선택도는 CBD와 THC 사이의 비가 약 10:1 내지 약 40:1인 CBD-담지된 매질을 얻는 것을 가능하게 한다.

[0036] 일 실시예에서, 칸나비노이드-담지된 매질은 약 0.1 내지 12 wt%의 CBD를 포함한다. 다른 실시예에서, 칸나비노이드-담지된 매질은 약 0.1 내지 11 wt%의 CBD, 약 0.1 내지 10 wt%의 CBD, 약 0.1 내지 9 wt%의 CBD, 또는 약 0.1 내지 8 wt%의 CBD를 포함할 수 있다. 일부 다른 실시예에서, 칸나비노이드-담지된 매질은 약 0.5 내지 12 wt%의 CBD, 약 1 내지 12 wt%의 CBD, 약 1.5 내지 12 wt%의 CBD, 또는 약 2 내지 12 wt%의 CBD를 포함할 수 있다. 다른 실시예에서, 칸나비노이드-담지된 매질은 약 0.5 내지 11 wt%의 CBD, 약 1 내지 10 wt%의 CBD, 약 1.5 내지 9 wt%의 CBD, 또는 약 2 내지 8 wt%의 CBD를 포함할 수 있다.

[0037] ***식물 공급원***을 나타낼 때, 바람직한 칸나비노이드가 추출되는 원료는 *칸나비스* 속의 식물임을 이해하여야 한다. 일 실시예에서, 식물 공급원은 *칸나비스 사티바 (Cannabis sativa)*, *칸나비스 인디카 (Cannabis indica)*, *칸나비스 루데랄리스 (Cannabis ruderalis)*, 및 이들의 임의의 혼합물로부터 선택된다. 식물 공급원은 임의의 자연적으로-발생하는 품종, 임의의 원예 변이체(horticultural variant), *칸나비스* 속에서 분류된 재배되거나 또는 조작된 품종일 수 있다.

[0038] 본 발명의 방법은 바람직한 칸나비노이드를 함유할 수 있는 식물 공급원의 임의의 부분을 이용하여 수행될 수 있다; 즉, 일 실시예에서, 식물 공급원은 칸나비스 꽃, 꽃차례(inflorescences), 새싹, 열매, 과피(pericarp), 종자, 잎, 줄기 (stems), 대(stalks), 뿌리, 및 이들의 임의의 혼합물로부터 선택된다.

[0039] 식물 공급원은 예를 들어 분말, 과립, 펠릿, 정제, 박편(flake), 조각 (shreddings) 또는 식물 부분 (예를 들어, 온전한 잎, 종자, 온전한 꽃차례 등)과 같은 임의의 바람직한 형태로 제공될 수 있다. 식물 공급원은 새로운, 반-건조 (semi-desiccated) 또는 건조, 냉동, 동결-건조 등으로 제공될 수 있다.

## *과제의 해결 수단*

[0040] 상기한 바와 같이, 본 발명의 방법에서 추출에 사용된 추출 매질은 적어도 하나의 오일, 적어도 하나의 친수성 계면활성제 및 적어도 하나의 공-계면활성제를 포함하고, 임의로 적어도 하나의 용매 및/또는 공-용매를 포함한다.

[0041] 본 발명의 문맥에서, 용어 ***오일***은 바람직한 칸나비노이드가 가용화된 천연 또는 합성 오일을 나타낸다. 본 발명의 추출 매질에 사용된 오일은 피험자에게 투여하기 위해 승인될 수 있다. 일 실시예에서, 오일은 정유 (예를 들어, R-리모넨, D-리모넨, 테르펜 또는 테르펜-없는), 광유, 파라핀 오일, 인지질, 극성 지질 (스쿠알렌, 스핑고멜린), 왁스, 식물성 오일, 트리글리세라이드, 글리세라이드, 지방산 및 지방산의 에스터, 액체 탄화수소 등, 및 이들의 임의의 혼합물을 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0042] 일 실시예에 따르면, 오일은 중쇄 트리글리세라이드 (MCT), 올리브유, 대두유, 카놀라유, 면실유, 팜올레인 (palmolein), 해바라기유, 옥수수유, 이소프로필 미리스테이트, 올레일 락테이트, 코코 카프릴로카프레이트 (coco caprylocaprate), 헥실 라우레이트(hexyl laurate), 올레일 아민(oleyl amine), 올레산(oleic acid), 올레일 알콜, 리놀레산(linoleic acid), 리놀레일 알콜(linoleyl alcohol), 에틸 올레에이트, 헥산, 헵탄, 노난, 데칸, 도데칸, D-리모넨, 트리아세틴(triacetin), 멀구슬유(neem oil), 라벤더유, 박하유(peppermint oil), 아니스유(anise oil), 멘톨(menthol), 캡사이신(capsaicin), 포도씨유, 석류유(pomegranate oil), 아보카도유,

참깨유(sesame oil), 어유(fish oil), 오메가유 및 오메가 지방산, 유사 정유 및 이들의 혼합물로부터 선택될 수 있다.

[0043] 다른 실시예에 따르면, 오일은 적어도 하나의 중쇄 트리글리세라이드 (MCT), 피마자유, R-(+)-리모넨, 글리세롤, 올레산, 트리아세틴, 이소프로필 미리스테이트, 에틸 라우레이트, 올리브유, 벤질 알콜, 라우릴아세테이트, 라우릴 락테이트, 올레일 락테이트, 세틸 알콜, 에틸 헥실 라우레이트, 에틸 헥실 올레에이트 등으로부터 선택된다.

[0044] 일 실시예에 따르면, 오일은 약 0.5 내지 20 wt%의 양으로 추출 매질 내에 존재할 수 있다.

[0045] 추출 매질은 적어도 하나의 친수성 계면활성제를 포함한다. 용어 ***친수성 계면활성제***는 친수성을 갖는 이온성 또는 비-이온성 계면활성제, 즉 물에 대한 친화도를 갖는 계면활성제를 나타낸다. 예시적인 계면활성제는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노라우레이트, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노팔미테이트, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트, 및 포화 및 불포화 피마자유의 폴리옥시에틸렌 에스터, 팔미토스테아레이트, 에톡실화 모노글리세롤 에스터(ethoxylated monoglycerol esters), 에톡실화 지방산, 단쇄 및 중쇄 및 장쇄 지방산의 에톡실화 지방산 등이다.

[0046] 일 실시예에서, 적어도 하나의 친수성 계면활성제는 Solutol HS15 (폴리에틸렌 글리콜 (15)-히드록시스테아레이트), 폴리옥시에틸렌, 에톡실화 (20EO) 소르비탄 모노라우레이트 (T20), 에톡실화 (20EO) 소르비탄 모노스테아레이트/팔미테이트 (T60), 에톡실화 (20EO) 소르비탄 모노올레에이트/리놀레에이트 (T80), 에톡실화 (20EO) 소르비탄 트리올레에이트 (T85), 피마자유 에톡실화 (20EO 내지 40EO); 수소화 피마자유 에톡실화 (20 내지 40EO), 에톡실화 (5-40 EO) 모노글리세라이드 스테아레이트/팔미테이트, 폴리옥실 35 및 40 EOs 피마자유로부터 선택된다. 다른 실시예에 따르면, 친수성 계면활성제는 글리세롤, 폴리옥실 35 피마자유, 폴리소르베이트 40 (Tween 40), 폴리소르베이트 60 (Tween 60), 폴리소르베이트 80 (Tween 80), Mirj S40, 올레오일 마크로골글리세라이드(Oleoyl macrogolglycerides), 폴리글리세릴-3 디올레에이트, 에톡실화 히드록실 스테아르산 (Solutol HS15), 당 에스터(sugar esters) (수크로오스 모노올레에이트, 수크로오스 모노스테아레이트), 폴리글리세롤 에스터 (10 글리세롤 모노올레에이트, 6 글리세롤 모노라우레이트, 또는 모노올레에이트); 및 단쇄 및 중쇄 포화 및 불포화 지방산의 나트륨-, 칼륨-, 암모늄-, 에탄올아민- 과 같은 비누 (예를 들어, 나트륨 라우레이트, 나트륨 올레에이트, 나트륨 리놀레에이트, 나트륨 리놀레네에이트(sodium linoleneate) 등), 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다. 일 실시예에 의해, 추출 매질은 약 30 내지 85 wt%의 상기 친수성 계면활성제를 포함할 수 있다.

[0047] 용어 ***공-계면활성제***는 일단 매질이 수성 액체와 혼합되면, 나노구조의 계면 또는 오일 코어 내로 추출된 칸나비노이드의 기하학적 및 물리적 통합뿐만 아니라, 균질한 혼합물의 형성을 허용하는 거의 제로 (또는 제로)로 유상과 수상 사이의 계면 장력을 낮출 수 있는 (친수성 계면활성제와 함께), 친수성 계면활성제와는 다른, 임의의 제제를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 일 실시예에 따르면, 공-계면활성제는 폴리올, 디글리세라이드, 폴리옥시에틸렌 등으로부터 선택된다.

[0048] 공-계면활성제는 적어도 하나의 ***폴리올***, 즉, 적어도 2 히드록실 기를 함유하는 알콜, 예를 들어 에틸렌 글리콜, 글리세롤, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 소르비톨, 만니톨, 락티톨(lactitol), 자일리톨 등일 수 있다.

[0049] 일 실시예에서, 공-계면활성제는 글리세롤, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 소르비톨, 자일리톨, PEG 200, PEG 400 및 PEG 600으로부터 선택될 수 있다. 일 실시예에서, 공-계면활성제는 약 1 내지 50 wt%의 양으로 추출 매질 내에 존재한다.

[0050] 일 실시예에서, 추출 매질은 적어도 하나의 용매를 더 포함할 수 있다. 용어 ***용매***는 오일에서 혼화성이며 이와 함께 CBD를 용해시키고 안정화시키는 균질한 유상을 형성하는, 오일과는 다른, 유기 화합물을 나타낸다. 일 실시예에 따르면, 용매는 액체 탄화수소, 알콜 등으로부터 선택될 수 있다. 일 실시예에 따르면, 용매는 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 아세트산, 락트산, 푸마르산, 말산(malic acid), 타르타르산, 숙신산 등으로부터 선택될 수 있다. 일 실시예에서, 용매는 약 0.1 내지 25 wt%의 양으로 추출 매질 내에 존재할 수 있다.

[0051] ***공-용매***는 폴리올, 예를 들어 프로필렌 글리콜, 글리세롤, 자일리톨 또는 에탄올, 프로판올, 이소-프로판올 등과 같은 단쇄 알콜일 수 있다.

[0052] 일 실시예에서, 추출 매질은 적어도 하나의 인지질을 더 포함한다. 대두 레시틴, 평지씨 레시틴, 옥수수 또는 해바라기 레시틴, 계란 레시틴, 히드록실화 인지질, 리소 인지질(lyso phospholipids), 인산화 인지질, 수소화

인지질, Epicorn 200, Phosal 50 PG, 디올레일 포스파티딜콜린(dioleyl phospatidylcholine; DOPC), 올레일 팔미토일 포스파티딜콜린 (POPC)과 같은 ***인지질***, 및 상응하는 세린, 에탄올아민, 글리세롤 등이 사용될 수 있다. 이러한 실시예에 따르면, 추출 매질은 약 1 내지 10 wt%의 인지질을 포함할 수 있다.

[0053] 통상의 기술자가 이해할 수 있는 바와 같이, 매질의 성분들 간의 비는 추출 매질에 특정 특성 (예를 들어, 바람직한 칸나비노이드 (예를 들어, CBD) 담지량, 액적 크기, 점도, 전하 등)을 부여하도록 맞게 조정될 수 있다.

[0054] 일 실시예에서, 추출 매질은 (i) 중쇄 트리글리세라이드 (MCT), R-(+)-리모넨, 트리아세틴, 및 올레산으로부터 선택된 적어도 하나의 오일; (ii) 폴리소르베이트 80 (Tween 80), 폴리옥실 35 피마자유 (크레모포 피마자유), 팔미토스테아레이트 (라브라솔(labrasol)), 수크로오스 모노-/디-라우레이트, 및 글리세롤로부터 선택된 적어도 하나의 친수성 계면활성제; 및 (iii) 공-계면활성제로서 폴리프로필렌 글리콜 (PG); 및 임의로 적어도 하나의 인지질 및/또는 에탄올 및 이소프로필 알콜로부터 선택된 적어도 하나의 용매를 포함한다.

[0055] 다른 실시예에서, 추출 매질은 하기의 추출 매질 제형으로부터 선택된다:

[0056] - 중쇄 트리글리세라이드 (MCT), 폴리소르베이트 80 (Tween 80), 폴리옥실 35 피마자유 (크레모포 피마자유), 폴리프로필렌 글리콜 (PG), 및 적어도 하나의 인지질; 또는

[0057] - R-(+)-리모넨, 폴리소르베이트 80 (Tween 80), 폴리프로필렌 글리콜 (PG), 및 에탄올 및 이소프로필 알콜로부터 선택된 적어도 하나의 용매; 또는

[0058] - 트리아세틴, 폴리옥실 35 피마자유 (크레모포 피마자유), 팔미토스테아레이트 (라브라솔), 폴리프로필렌 글리콜 (PG), 적어도 하나의 인지질, 및 에탄올 및 이소프로필 알콜로부터 선택된 적어도 하나의 용매; 또는

[0059] - 중쇄 트리글리세라이드 (MCT), 수크로오스 모노-/디-라우레이트, 폴리프로필렌 글리콜 (PG), 적어도 하나의 인지질, 및 에탄올 및 이소프로필 알콜로부터 선택된 적어도 하나의 용매; 또는

[0060] - 중쇄 트리글리세라이드 (MCT), 올레산, 폴리소르베이트 80 (Tween 80), 폴리옥실 35 피마자유 (크레모포 피마자유), 글리세롤, 폴리프로필렌 글리콜 (PG), 적어도 하나의 인지질, 및 에탄올 및 이소프로필 알콜로부터 선택된 적어도 하나의 용매.

[0061] 본 발명의 식물 공급원은 추출 매질을 이용하여 추출된다. 용어 ***추출*** 또는 이의 임의의 언어적 변화는, 식물 공급원으로부터의 바람직한 칸나비노이드를 추출 매질의 가용화 유상으로의 전달을 나타내는 것을 의미한다. 본 발명의 방법은 예를 들어 식물 공급원과 추출 매질을 혼합하여 제 1 혼합물을 얻는 단계를 포함한다. ***혼합***은 단순한-혼합(sheer-mixing)을 포함하지 않는 임의의 적당한 알려진 방법, 예를 들어 수동 혼합, 자기 교반(magnetically stirring), 페달에 의한 혼합 등에 의해 수행될 수 있다.

[0062] 일 실시예에서, 식물 공급원의 제 1의 양 대 추출 매질의 제 1의 양의 중량비 (wt/wt)는 1:5 내지 1:100 이다. 다른 실시예에서, 식물 공급원의 제 1의 양 대 추출 매질의 제 1의 양의 중량비 (wt/wt)는 1:7 내지 1:90, 1:10 내지 1:80, 1:12 내지 1:70, 또는 심지어 1:15 내지 1:60 이다.

[0063] 다음 단계에서, 제 1 혼합물을 균질화한다. ***균질화***, 또는 이의 임의의 언어적 변화는, 혼합물에 단순한 힘을 적용하여 식물 공급원과 추출 매질 모두를 분해하고 (즉, 식물 공급원의 크기를 줄이고) 이들을 혼합하여 식물 공급원으로부터 바람직한 칸나비노이드의 추출을 허용하는 밀접한 접촉을 형성하는 과정을 나타낸다. 균질화는 균질기 및 고속 기계적 교반을 포함하나 이에 한정되지 않는 임의의 적당한 수단에 의해 수행될 수 있다. 본 발명의 방법에서 사용된 매질은 나노미터 크기의 구조를 가지기 때문에, 균질화 과정은 미셀 크기 및/또는 추출 매질의 구조에 대하여 거의 영향을 미치지 않음을 유의해야 한다.

[0064] 일 실시예에서, (즉, 단계 (b)의) 균질화는 약 1분 내지 약 120분 동안 수행될 수 있다. 다른 실시예에서, 균질화는 약 1분 내지 60분, 약 1분 내지 45분, 약 1분 내지 30분, 또는 심지어 약 1분 내지 20분 동안 수행된다. 일부 다른 실시예에서, 균질화는 약 5분 내지 약 120분, 약 10분 내지 약 120분, 약 15분 내지 약 120분, 또는 심지어 약 20분 내지 약 120분 동안 수행될 수 있다.

[0065] 일 실시예에 따르면, 균질화는 약 500 내지 6,000 psi의 압력에서 수행될 수 있다.

[0066] 일 실시예에서, 균질화는 약 5 내지 약 70 ℃의 온도에서 수행될 수 있다. 다른 실시예에서, 균질화는 약 10 내지 약 70 ℃, 약 15 내지 약 70 ℃, 약 20 내지 약 70 ℃, 약 25 내지 약 70 ℃ 또는 약 30 내지 약 70 ℃의 온도에서 수행될 수 있다. 일부 다른 실시예에서, 균질화는 약 10 내지 약 65 ℃, 약 10 내지 약 60 ℃, 약 10 내지 약 55 ℃, 약 10 내지 약 50 ℃, 약 10 내지 약 45 ℃, 또는 심지어 약 10 내지 약 40 ℃의 온도에서 수행

될 수 있다. 다른 실시예에서, 균질화는 약 5 내지 약 60 ℃, 약 20 내지 약 50 ℃, 또는 약 25 내지 약 45 ℃의 온도에서 수행될 수 있다.

[0067] 균질화는 임의의 적당한 유형의 균질기, 예를 들어 실버슨 균질기, 울트라-토크(ultra-torque) 균질기, 콜로이드 밀(colloid mill), 초음파 분쇄 (sonication), 볼 밀링(ball milling), 미세유동화기(microfluidizer) 및 고 전단력 및 고 기계력 또는 압력을 사용하는 다른 균질화 방법, 유화 방법 또는 분산 방법을 이용하여 수행될 수 있다.

[0068] 일단 혼합물이 균질화되면, 혼합물은 사용된 식물 공급원을 포함하는 바이오매스 슬러리, 및 칸나비노이드-담지된 매질 (예를 들어, CBD-담지된 매질)로 분리된다. 분리는 임의의 적당한 방법, 예를 들어 여과기를 통한 여과 또는 추출 단계의 원심 분리, 경사 분리(decantation) 또는 흡인(aspiration)에 의해 수행될 수 있다. 일 실시예에서, 혼합물의 분리는 원심 분리에 의해 수행되며, 여과가 뒤따를 수도 있고 또는 그렇지 않을 수도 있다.

[0069] 종종 칸나비노이드의 적어도 일부는 이의 카복실화 형태로 식물에서 발견될 수 있음을 유의해야 한다. 예를 들어, 대부분의 CBD는 CBDA로서 식물에서 발견된다. 따라서, 카복실화 형태를 비-카복실화 형태로 변환시키는 것; 예를 들어, CBDA를 약리학적 활성을 갖는 것으로 알려진 CBD로 변환시키는 것이 종종 바람직하다. 현재 개시된 방법에서, 이러한 변환은 추출 전에 식물 공급원을 가열함으로써, 칸나비노이드를 탈카복실화시킴으로써 (예를 들어, CBDA를 CBD로) 제공될 수 있다. 따라서, 일 실시예에서, 방법은 단계 (a) 전에, 식물 공급원의 가열 단계를 더 포함할 수 있다.

[0070] 일부 다른 경우에, 가열이 CBDA-담지된 매질에서 수행되는 (즉, 추출 후), 다음 단계에서 가열 단계가 수행될 수 있다.

[0071] 일 실시예에 따르면, 식물 공급원은 약 90 내지 약 180 ℃의 온도로 가열될 수 있다. 다른 실시예에서, 식물 공급원은 약 90 내지 약 175 ℃, 약 90 내지 약 170 ℃, 약 90 내지 약 165 ℃, 또는 약 90 내지 약 160 ℃의 온도로 가열될 수 있다. 일부 다른 실시예에서, 식물 공급원은 약 125 내지 약 180 ℃, 약 130 내지 약 180 ℃, 약 135 내지 약 180 ℃, 또는 약 140 내지 약 180 ℃의 온도로 가열될 수 있다. 다른 실시예에서, 식물 공급원은 약 125 내지 약 170 ℃, 약 130 내지 약 165 ℃, 또는 심지어 약 135 내지 약 160 ℃의 온도로 가열될 수 있다.

[0072] 또한, 낮은 온도에서의 가열은 주로 식물 공급원의 연소의 위험을 피하기 위해 고려된다. 그러나, 더 낮은 온도가 사용되는 경우, 더 긴 가열 기간이 적용되어야 한다. 또한, 가열은 2 단계로 수행될 수 있다; 식물에서 물을 건조하기 위한 제 1 단계 (최대 120분 동안 50-70 ℃) 및 탈카복실화를 위한 70-160 ℃에서 제 2 단계.

[0073] 일 실시예에서, 가열은 질소 (바람직하게는, 산소-없는) 분위기 하에서 수행될 수 있다.

[0074] 일 실시예에서, 식물 공급원은 약 5 내지 240 분 동안 가열될 수 있다. 다른 실시예에서, 식물 공급원은 약 10 내지 100 분, 약 15 내지 80 분, 또는 약 20 내지 60 분 동안 가열될 수 있다.

[0075] 바이오매스 슬러리로부터 칸나비노이드의 추가 추출은 추가의 추출 주기를 이용하여 수행됨으로써, 주어진 양의 식물 공급원으로부터 얻어진 수율을 극대화시킬 수 있다. 즉, 식물 공급원으로부터 바람직한 칸나비노이드의 추출을 극대화하기 위하여, 추출 매질의 새로운 배치를 사용하여 동일한 식물 시료에 대해 여러 연속 추출 주기를 수행할 수 있다. 따라서, 일 실시예에서, 상기 방법은

[0076] (d) 바이오매스 슬러리를 추출 매질의 제 2의 양과 혼합하여 제 2 혼합물을 얻는 단계;

[0077] (e) 제 2 혼합물을 균질화하는 단계; 및

[0078] (f) 제 2 혼합물을 바이오매스 슬러리 및 고도로 칸나비노이드-담지된 매질로 분리하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0079] 일 실시예에서, 단계 순서 (d)-(f)는 1 내지 7회 반복된다.

[0080] 매질에서 더 높은 추출 담지량을 얻기 위하여, (이전에 추출되지 않은) 새로운 식물 공급원 시료로부터 동일한 칸나비노이드의 추가 양을 추출하기 위해 칸나비노이드-담지된 매질을 사용하여 여러 추출 주기로 방법을 수행할 수 있다. 따라서, 일 실시예에서, 상기 방법은

[0081] (d') 칸나비노이드-담지된 매질을 식물 공급원의 제 2의 양과 혼합하여 제 2 혼합물을 얻는 단계;

[0082] (e') 제 2 혼합물을 균질화하는 단계; 및

[0083] (f') 제 2 혼합물을 바이오매스 슬러리 및 고도로 칸나비노이드-담지된 매질로 분리하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0084] 일 실시예에서, 단계 순서 (d')-(f')는 1 내지 7회 반복된다.

[0085] 단계 (d)-(f) 또는 (d')-(f')의 혼합, 균질화 및 분리 매개변수는 단계 (a)-(c)와 관련하여 상기 기재된 것과 동일하거나 또는 상이할 수 있다.

[0086] 본 명세서에 기재된 두 방법 순서에서, 일 실시예에 의해, 새로운 추출 매질 및 칸나비노이드-담지된 매질이 방법의 상이한 주기에서 사용되는 것으로 고려된다. 즉, 주기 중 일부는 새로운 추출 매질로 수행될 수 있는 반면, 동일한 방법 순서에서 다른 주기는 칸나비노이드-담지된 매질로 수행될 수 있다.

[0087] 사용된 바이오매스는 THC, 정유, 테르펜 및 식물 공급원의 다른 활성 성분 등과 같은 추가 성분을 추출하기 위한 임의의 바람직한 방법에 의해 더 처리될 수 있다.

[0088] 상이한 추출 배치의 칸나비노이드-담지된 매질 할당량(quotas)을 함께 혼합하여 최종 생성물에서 바람직한 농도의 칸나비노이드를 얻을 수 있다. 이러한 혼합은 임의의 적당한 혼합 방법에 의해 수행될 수 있다. 칸나비노이드-담지된 매질은 그대로 사용될 수 있거나, 또는 하기에 더 상세히 설명되는 바와 같이 액체-겔 캡슐, 크림, 겔, 패치 등에 담지시키거나 또는 희석시킨 것에 다른 성분 (항산화제, 보존제)을 첨가하여 더 제형화시킬 수 있다.

[0089] 본 발명의 다른 측면에서, 적어도 하나의 오일, 적어도 하나의 친수성 계면활성제 및 적어도 하나의 용매를 포함하는, 칸나비노이드-함유 식물 공급원으로부터의 바람직한 칸나비노이드 (예를 들어, 칸나비디올 (CBD))의 선택적 추출을 위한 추출 매질이 제공되며, 추출 매질은 임의로 적어도 하나의 인지질 및/또는 적어도 하나의 공-용매를 더 포함한다.

[0090] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 방법에 의해 얻어진 칸나비노이드-담지된 매질 (예를 들어, CBD)을 제공한다.

[0091] 본 발명의 또 다른 측면은 적어도 0.1 wt% CBD, 적어도 하나의 오일, 적어도 하나의 친수성 계면활성제 및 적어도 하나의 공-계면활성제를 포함하는 CBD-담지된 매질을 제공하며, 매질은 임의로 적어도 하나의 용매, 적어도 하나의 공-용매, 및/또는 적어도 하나의 인지질을 더 포함한다.

[0092] 일 실시예에서, CBD-담지된 매질은 약 1 내지 12 wt% CBD를 포함한다. 다른 실시예에서, CBD-담지된 매질은 최대 1 wt%의 THC를 포함한다.

[0093] 오일, 친수성 계면활성제, 용매 및 인지질은 상기 기재된 것들로부터 선택된다.

[0094] 추가 실시예에서, 본 명세서에 기재된 각각의 추출 매질은 항산화제 (예를 들어, 토코페롤), 산소 제거제 (oxygen scavenger), 항균 보존제, 막-관통제 (membrane-piercing agent) (펩티드), 막관통 침투 향상제 (transmembrane penetration enhancers) (예를 들어, 트랜스큐톨(transcutol), 이소소르비드, 올레산, 프로필렌 글리콜, 말토덱스트린, 시클로덱스트린 등), 향료 및/또는 방향제로부터 선택된 적어도 하나의 첨가제를 추가로 포함할 수 있다.

[0095] 칸나비노이드-담지된 매질은 그대로, 즉 다른 성분의 첨가 없이, 약학 조성물로서 사용될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 칸나비노이드-담지된 매질은 다양한 수성 액체로 희석시키거나 또는 다양한 다른 담체에 이들을 혼입시킴으로써, 다양한 제형으로 제형화될 수 있다. 본 발명의 희석된 형태뿐만 아니라, 농축물은 시간이 지남에 따라 제형의 안정성을 크게 증가시키고, 오염의 위험을 감소시키며, 다양한 농도 (다양한 용량) 및 희석된 형태로의 이의 적용 범위를 넓히는 반면, 의료 전문가가 사용하기 전에 어떻게, 언제 및 어떤 농도 (희석)로 준비할 것인지 결정할 수 있다.

[0096] 용어 ***농축물***은 실질적으로 물-없는, 오일-기반 구조의 지질/계면활성제 시스템을 나타내며, 여기서 계면활성제 꼬리는 CBD 및 오일에 의해 가용화되어 수상 희석제에 의해 완전히 희석되는 것을 가능하게 하여 (***희석 가능함***) 투여용 희석된 칸나비노이드-담지된 매질을 형성한다. 즉, 농축물은 적당한 희석제, 일반적으로 물 및 수용액 (예를 들어, 당, 감미제 용액 및 물-알콜 혼합물)에서 신속하고 완전하게 희석되도록 설계되어, 이제 기재될 바와 같이, 희석된 마이크로에멀젼을 형성한다. 적당한 희석제로 희석 시, 본 발명의 농축물은 소량 희석 시 (약 10-30 wt%) 유-중-수 나노액적을 형성하는 제 1 "계면활성제의 용매화 도메인 (또는 클러스터)" 메조상인 마이크로에멀젼을 자발적으로 형성하고; 추가 희석 시 이중연속 메조상 및 수-중-유 (O/W) 나노액적으로

변환시키고, 여기서 희석제는 연속 상을 형성하는 반면, 유상은 나노미터 크기의 별개의 액적의 형태 (즉, 희석된 마이크로에멀젼)이다. 상기한 바와 같이, 희석된 칸나비노이드-담지된 매질은 자발적으로, 즉, 전단, 공동현상(cavitation) 또는 균질화 과정을 적용할 필요없이, 농축물로부터 형성된다.

[0097] 칸나비노이드의 프로파일 투여 용량의 공식화 및 더 나은 조절에 유연성을 제공하는 것 이외에, 본 명세서에 기재된 방법에 의해 제조된 농축물은 실질적으로 물이 없다, 즉 전혀 없다. 일단 물이 추출 매질에 없으면, 농축물은 미생물 성장 (예를 들어, 진균 또는 박테리아)을 유지하는 환경이 결여되어, 오염의 위험없이 (또는 최소로) 더 오래 저장할 수 있다. 이론에 얽매이지 않고, 이러한 농축물에 대해 박테리아 오염이 거의 관찰되지 않는 이유 중 하나는 비결합된 물이 없을 수 있기 때문이며, 이로써 미생물 성장을 제한하고 칸나비노이드-담지된 매질의 저장 수명(shelf life)을 실질적으로 연장시킨다.

[0098] 일 실시예에서, 칸나비노이드-담지된 매질 (즉, 농축물)은 물이 완전히 전혀 없다.

[0099] 농축물과 희석제 사이의 비는 추출 매질에서 칸나비노이드의 바람직한 최종 농도에 의존한다. 일 실시예에 따르면, 희석된 칸나비노이드-담지된 매질은 약 60 내지 약 98 wt%의 희석제를 포함한다.

[0100] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 칸나비노이드-담지된 매질을 포함하는 약학 조성물 또는 기능식품 조성물을 제공한다.

[0101] 일 실시예에서, 약학 조성물은 적어도 하나의 약학적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있다. 본 명세서에 기재된 "***약학적으로 허용가능한 담체***", 예를 들어, 비히클, 보조제, 부형제 또는 희석제는 통상의 기술자에게 잘 알려져 있으며 대중에게 쉽게 이용 가능하다. 약학적으로 허용가능한 담체는 활성 화합물에 대해 화학적으로 불활성인 것 및 사용 조건 하에서 유해한 부작용 또는 독성을 갖지 않는 것이 바람직하다.

[0102] 담체의 선택은 활성제 (즉, 칸나비노이드 프로파일), 및 조성물을 투여하기 위해 사용된 특정 방법에 의해 부분적으로 결정될 것이다. 따라서, 본 발명의 약학 조성물의 다양한 적당한 제형이 있다.

[0103] 상기 기재된 바와 같이, 수성 액체로 희석될 때, 자발적인 수-중-유 (O/W) 나노-미셀이 형성되고, 여기서 희석제는 연속 상을 형성하는 반면, 유상은 나노미터 크기의 별개의 액적의 형태이다. 일 실시예에서, 희석 매질의 오일 액적은 최대 100 나노미터 (바람직하게는 <50㎚)의 평균 액적 직경을 가질 수 있다.

[0104] 일부 다른 실시예에서, 액적 크기는 약 10 내지 50 ㎚ (나노미터)이다. ***액적 크기***는 측정된 액적의 직경의 산술평균(arithmetic mean)을 나타내며, 직경은 평균값으로부터 ±15%의 범위이다.

[0105] 또한, 본 발명의 희석 매질은 오일 액적의 단-분산 크기 분포를 특징으로 한다. 즉, 오일 액적의 크기 분포는 평균 크기 값과 상당한 차이없이 좁다. 일 실시예에서, 오일 액적의 분포의 다분산 지수 (PDI)는 약 0.03 내지 0.1 이다.

[0106] 수성 희석제는 물, 향이 첨가된 물(flavored water), 주사용수, 식염수, 덱스트로오스 용액, 또는 3 내지 9의 pH를 갖는 완충제로부터 선택될 수 있다. 향료 및/또는 방향제는 희석 중에 또는 희석 후에 첨가될 수 있다.

[0107] 약학 조성물은 투여 경로 및/또는 바람직한 특성의 제형, 예를 들어, 수성 및 비-수성 희석제, 등장성 멸균 주사 용액, 항산화제, 완충제, 정균제 (bacteriostats), 현탁화제, 가용화제, 증점제, 겔화제, 연화제 (emollients), 보습제, 안정화제, 보존제, 완충제, 착색제, 향료, 흡수제, 충전제, 전해질, 단백질, 킬레이트화제 등에 따라 다양한 추가 성분을 포함할 수 있다.

[0108] 일 실시예에서, 약학 조성물은 겔, 로션, 오일, 비누, 분무, 에멀젼, 크림, 연고, 캡슐, 연질-겔 캡슐, 츄잉검, 국소 패치, 협측 또는 설하 필름, 점안액 또는 용액으로부터 선택된 형태이다.

[0109] 다른 실시예에서, 조성물은 국소, 경구, 직장, 질, 협측, 비강, 경피, 피하, 정맥 내, 근육 내, 비강 내, 흡입, 안구내 또는 비경구 (정맥 내 (*iv*), 근육 내 (*im*) 및 피하 (*sc*))를 포함하여, 다양한 투여 경로로 피험자의 순환계 내로 칸나비노이드의 전달에 적합할 수 있다.

[0110] ***경구 투여***에 적합한 제형은 (a) 액체 용액, 예를 들어 물, 식염수, 향이 첨가된 물 또는 쥬스 (예를 들어, 오렌지 쥬스)와 같은 희석제에 용해된 유효량의 화합물 또는 이를 포함하는 조성물; (b) 각각 미리 결정된 양의 활성 성분을 고체 또는 과립으로 함유하는 캡슐, 향낭(sachets), 정제, 로젠지(lozenges) 및 트로키 (troches); (c) 분말; (d) 적당한 액체의 현탁액; (e) 농축물 또는 희석 시스템; (f) 경구, 비강, 설하 또는 협측 분무; (g) 흡입 분무로 이루어질 수 있다. 액체 제형은 약학적으로 허용가능한 계면활성제, 현탁화제 또는 유화제의 첨가 여부에 관계없이, 물 및 알콜, 예를 들어, 에탄올, 벤질 알콜 및 폴리에틸렌 알콜과 같은 희석제를 포함할

수 있다. 캡슐 형태는 예를 들어 계면활성제, 윤활제, 및 락토오스, 수크로오스, 인산 칼슘 및 옥수수 전분과 같은 불활성 충전제를 함유하는 통상적인 경질- 또는 연질-껍질 젤라틴 유형일 수 있다. 정제 형태는 락토오스, 수크로오스, 만니톨, 옥수수 전분, 감자 전분, 알긴산, 미세결정 셀룰로오스, 아카시아, 젤라틴, 구아 검, 콜로이드성 이산화 규소, 활석(talc), 마그네슘 스테아레이트, 칼슘 스테아레이트, 아연 스테아레이트, 스테아르산, 및 기타 부형제, 착색제, 희석제, 완충제, 붕해제, 습윤제, 보존제, 향료 및 약리학적으로 허용되는 담체 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 로렌지 형태는 향료, 일반적으로 수크로오스 및 아카시아 또는 트라가칸트(tragacanth), 및 젤라틴 및 글리세린과 같은 불활성 염기의 활성 제형, 또는 활성 제형 이외에 당해 기술분야에 알려진 이러한 담체를 함유하는 수크로오스 및 아카시아, 에멀젼, 겔 등을 포함하는 캔디(pastilles)에 활성 성분을 포함할 수 있다.

[0111] 본 발명의 또 다른 측면은 통증 관련 질환 (진통제로서), 염증성 질환 및 질병 (항염증제로서), 식욕 억제 또는 자극 (식욕 억제제 또는 자극제), 구토 및 메스꺼움의 증상 (항구토제로서), 내장 및 장 질환, 불안과 관련된 질환 및 질병 (항불안제로서), 정신병과 관련된 질환 및 질병 (항정신병제로서), 발작 및/또는 경련과 관련된 질환 및 질병 (항경련제 또는 진경제로서), 수면 장애 및 질병 (항불면증제로서), 면역 억제에 의한 치료를 필요로 하는 질환 및 질병, 상승된 혈당 수준과 관련된 질환 및 질병 (항당뇨제로서), 신경계 저하와 관련된 질환 및 질병 (신경보호제로서), 염증성 피부 질환 및 질병 (예를 들어, 건선), 동맥 폐색과 관련된 질환 및 질병 (항허혈제로서), 박테리아 감염과 관련된 질환 및 질병, 진균 감염과 관련된 질환 및 질병, 증식성 질환 및 질병, 뼈 성장 억제와 관련된 질환 및 질병, 외상 후 장애 등으로부터 선택된 질병의 치료에 사용하기 위한, 본 발명의 추출 매질 또는 약학 조성물을 제공한다.

[0112] 또 다른 측면은, 질병을 앓고 있는 피험자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 본 발명의 추출 매질 또는 약학 조성물을 피험자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0113] 일 실시예에서, 질병은 상기 기재된 것들로부터 선택될 수 있다.

[0114] 본 명세서에 기재된 방법에 의해 제조된 추출 매질은 그대로 사용되어 적어도 하나의 효과, 예를 들어 ***치료 효과***를 유발할 수 있거나, 또는 피험자에서 원치 않는 질병 또는 질환의 치료 또는 예방을 통해 적어도 하나의 효과를 유발, 향상, 억제 또는 감소시킬 수 있는, 적어도 하나의 제제, 예를 들어 치료제와 관련될 수 있다. 적어도 하나의 제제 (물질, 분자, 원소, 화합물, 실재물(entity) 또는 이들의 조합)는 치료제, 즉 치료적 유효량으로 투여될 때 치료 효과를 유발하거나 또는 조절할 수 있는 제제, 및 비-치료제, 즉 그 자체로는 치료 효과를 유발하거나 또는 조절하지 않으나 선택된 바람직한 특성을 약학 조성물에게 부여할 수 있는 제제 중에서 선택될 수 있다.

[0115] 본 발명의 약학 조성물은 임의의 병리 또는 질병을 치료, 예방 또는 개선하기 위해 선택될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 ***치료*** 또는 이의 임의의 언어적 변화는, 농축된 추출 매질 형태이든 또는 희석된 형태이든 간에, 치료적 양의 본 명세서에 기재된 조성물 또는 시스템의 투여를 나타내며, 이는 질환과 관련된 바람직하지 않은 증상을 개선시키고, 이러한 증상이 발생하기 전에 이러한 증상의 징후를 예방하고, 질환의 진행을 늦추고, 증상의 악화를 늦추고, 회복 기간의 개시를 향상시키고, 진행성 만성 단계의 질환에서 유발되는 회복할 수 없는 손상을 늦추고, 상기 진행성 단계의 발병을 지연시키고, 중증도를 줄이거나 또는 질환을 치료하고, 생존율 또는 보다 빠른 회복을 개선시키고, 또는 질환이 발생하는 것을 막고 또는 상기 중 2 이상의 조합에 효과적이다.

[0116] 알려진 바와 같이, 본 명세서의 목적을 위한 ***유효량***은 당해 기술분야에 알려진 이러한 고려 사항에 의해 결정될 수 있다. 유효량은 일반적으로 적당하게 설계된 임상 시험 (용량 범위 연구)에서 결정되며, 통상의 기술자는 유효량을 결정하기 위하여 이러한 시험을 적절하게 수행하는 방법을 알 것이다. 일반적으로 알려진 바와 같이, 유효량은 체내의 분포 프로파일, 체내의 반감기와 같은 다양한 약리학적 매개변수, 바람직하지 않은 부작용, 만약에 있다면, 연령 및 성별 등과 같은 요인을 포함하여 다양한 인자에 의존한다.

[0117] 용어 "***피험자***"는 포유류, 즉 인간 또는 비-인간을 나타낸다.

[0118] 제 1 표시 숫자 및 제 2 표시 숫자 "***사이의 범위(ranging/ranges between)***" 및 제 1 표시 숫자 "내지(to)" 제 2 표시 숫자 "의 범위(ranging/ranges from)"는 본 명세서에서 혼용되며, 제 1 및 2 표시 숫자 및 그 사이의 모든 분수 및 정수 숫자를 포함하는 것을 의미한다. 다양한 실시예가 주어진 범위를 이용하여 기재되는 경우, 범위는 단지 편의상 및 간결함을 위해 제공되며, 본 발명의 범위를 불변의 제한으로 해석되어서는 안된다는 점에 유의해야 한다. 따라서, 범위의 기재는 가능한 모든 하위-범위 및 그 범위 내의 개별 수치 값을 구체적으로 개

시한 것으로 간주되어야 한다.

[0119] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 '***약***'은 매개변수의 구체적으로 언급된 값, 예를 들어, 온도, 압력, 농도 등으로부터 ±10%의 편차를 포함하는 것을 의미한다.

## *도면의 간단한 설명*

[0120] 본 명세서에 개시된 주제를 더 잘 이해하고 그것이 실제로 수행될 수 있는 방법을 예시하기 위하여, 첨부된 도면을 참조하여 비-제한적인 예로서만, 실시예를 이제 기재할 것이다.

**도 1**은 HPLC 분석에 의해 얻어진 CBDA를 CBD로 변환시키기 위한 다양한 온도에서 가열된 식물 시료의 가열 온도에 대한 CBD 피크 면적을 나타낸다.

**도 2**는 다양한 가열 온도에서의 가열 시간에 대해 도시된 HPLC 분석에 의해 얻어진 CBD/CBDA 피크 면적비를 나타낸다.

**도 3**은 추출 매질 및 40% 물-희석된 추출 매질 내 CBD 농도를 나타낸다.

**도 4**는 추출 기간의 함수로서 AX-1 추출 매질 내 CBD 농도를 나타낸다.

**도 5**는 추출 기간의 함수로서 AX-1 추출 매질을 이용한 식물로부터 CBD 추출의 수율을 나타낸다.

**도 6**은 다양한 추출 기간에 대해 식물 시료 (CBDA, THC 및 CBN)에서 CBD 피크 면적과 다른 칸나비노이드의 피크 면적 사이의 비를 나타낸다.

**도 7**은 식물-대-매질 비의 함수로서 AX-1 추출 매질 내 CBD 농도를 나타낸다.

**도 8**은 식물-대-마이크로에멀젼 비의 함수로서 AX-1 추출 매질을 이용한 식물로부터 CBD 추출의 수율을 나타낸다.

**도 9**는 다양한 식물-대-매질 비에 대해 식물 시료 (CBDA, THC 및 CBN)에서 CBD 피크 면적과 다른 칸나비노이드의 피크 면적 사이의 비를 나타낸다.

**도 10**은 추출 주기의 횟수의 함수로서 AX-1 추출 매질 내 CBD 농도를 나타낸다.

**도 11**은 추출 주기의 횟수의 함수로서 AX-1 추출 매질을 이용한 식물로부터 CBD 추출의 수율을 나타낸다.

**도 12**는 추출 주기의 횟수의 함수로서 추출 매질 시료에서 CBD, CBDA, THC 및 CBN의 피크 면적을 나타낸다.

**도 13**은 에탄올을 이용한 CBD 및 다른 칸나비노이드의 추출 농도 및 수율을 나타낸다.

**도 14**는 석유 에테르를 이용한 CBD 및 다른 칸나비노이드의 추출 농도 및 수율을 나타낸다.

**도 15a-15b**는 각각 CBD-담지된 AX-1 및 5CS 농축물에 대해 수행된 70일 동안의 안정성 시험 결과를 나타낸다.

**도 16**은 랫트로부터 채취한 시료에서, CBD-담지된 AX-1, CBD-담지된 5CS 및 올리브유 (기준)에 가용화된 결정성 CBD 제형의 투여로부터 0.5시간 및 2시간에서의 혈장 내 CBD 수준을 나타낸다.

**도 17**은 kg 체중 당 5, 25 및 50 mg의 식물 공급원의 투여량에서 '5CS 추출 매질' 또는 '에탄올 추출물'로 경구 처리 24시간 후에 채취한 혈액 시료에서 측정된 급성 발(paw) 염증 유발 마우스의 TNF-α 혈장 수준을 나타낸다.

**도 18**은 처리 후 6시간에 측정한 올리브유에 용해된 에탄올 추출물과 비교하여, '5CS 추출 매질' 매질로 처리된 마우스에서 염증이 있는 발의 발-두께를 나타낸다.

**도 19**는 DTH-유발 랫트의 측정된 귀 두께를 나타낸다.

**도 20A-D**는 DTH 시험에서 랫트의 귀의 사진이다: 24mg/kg BW의 5CS 제형 (도 20A), 48mg/kg BW의 5CS 제형 (도 20B), 미처리 DTH-유발 (도 20C), 및 순수한 랫트 (도 20D).

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0121] 식물 예열의 효과

[0122] 상기에서 설명한 바와 같이, CBD의 적어도 일부는 CBDA의 형태로 식물에서 발견된다. CBDA의 탈카복실화는 바람

직한 CBD를 얻기 위해 조절된 조건에서 식물을 가열함으로써 수행될 수 있다. 하기의 실시예에서 사용된 식물은 *칸나비스 사티바 (Cannabis sativa)*, 및 *칸나비스 인디카 (Cannabis indica)*의 다양한 혼성물(hybrids)이었다.

[0123] 추출 과정 전에 식물 공급원의 가열이 추출 수율에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 다양한 품종의 건조된 칸나비스 식물에서 칸나비노이드 종의 함량을 가열 전에 HPLC로 분석하였다.

[0124] 식물 시료 (꽃, 잎 및 줄기의 혼합물을 사용함)를 대충 썬 다음, 10 내지 120분 동안, 90 내지 170 ℃의 온도에서, 공기 분위기에서 가열하였다. 그 다음, 30-35℃에서 30분 동안 교반하면서 에탄올 (식물 100mg 당 10ml)로 시료를 추출하였다. HPLC에 의해 측정된 바와 같이, 에탄올을 CBDA의 CBD로의 전환에 대한 기준 용매로서 사용하였다. 그 다음, 시료를 탈지면(cotton wool)을 통해 여과시켜 추출물을 얻었고,이를 HPLC로 분석하였다.

[0125] HPLC 분석은 하기 조건을 사용하여 수행하였다: C18 컬럼, 이동상 - 메탄올/물 (69/31 v/v%)에서 100% 메탄올의 구배, 유속 0.3 ml/min.

[0126] CBD 피크 면적을 가열 온도에 대해 도시하였다 (**도 1**). **도 2**는 다양한 가열 온도에서의 가열 시간에 대해 CBD 피크 면적과 CBDA 피크 면적 사이의 비를 나타낸다.

[0127] 결과로부터 명백한 바와 같이, 가열은 식물 시료에서 CBD의 농도를 상당히 증가시켜, 시료에서 바람직한 추출 가능한 칸나비노이드 종의 함량을 증가시킨다. 시료가 낮은 온도 범위 (140℃)에서 가열될 때, 60-90분의 가열 후에 CBDA의 CBD로의 최대 변환이 관찰되었다. 높은 온도 (160℃)의 경우, 10-25분의 가열이 시료에서 바람직한 수준의 CBD를 얻는데 충분하였다.

[0128] 140℃ (60-90분 동안)에서의 긴 가열 또는 160℃ (10-25분 동안)에서의 짧은 가열은 CBDA가 CBD로의 높은 전환뿐만 아니라 식물에서 가장 많은 양의 CBD에 도달하는데 적합하다. 170℃ 이상에서는 CBDA가 이미 10분 후에 확인되지 않았으나, 분해 생성물은 초기 단계에서 나타난다.

[0129] 따라서, 이 결과를 토대로, 160℃에서 15분 동안 가열한 식물을 사용하여 모든 하기의 추출을 수행하였다.

[0130] 추출 매질 및 제조

[0131] 상기한 바와 같이, 추출 과정에 사용되는 추출 매질은 자발적 방법으로 형성된 자기-조립 시스템이다. 따라서, 추출 매질의 여러 조성물은 25-70℃에서 성분들의 간단한 혼합에 의해 제조되었다. 추출 매질의 예시적인 제조 방법은 균질하고 맑은 (투명한) 혼합물이 얻어질 때까지, 오일, 계면활성제 및 공-계면활성제 (및 적용 가능한 경우, 용매, 공-용매 및/또는 인지질)를 함께 혼합하는 단계를 포함한다. 계면활성제 또는 오일이 실온에서 고체인 경우, 혼합하면서 가열하여 빈 추출 매질의 완전한 용해 및 형성을 허용할 수 있다.

[0132] 그 다음, 예열되고 잘게 잘린 식물에 추출 매질을 천천히 첨가하여 적당한 습윤을 허용한 후, 혼합하고 균질화한다. 방법의 또 다른 변형은 균질한 슬러리가 얻어질 때까지, 빈 (담지되지 않은) 추출 매질에 고체 식물 부분 (예를 들어, 잎 또는 새싹)을 서서히 첨가하는 단계를 포함한다.

[0133] 불활성 분위기의 유무에 관계없이 가열 하에 추출을 수행하여, CBD를 추출 매질 내로 가용화시켰다. 혼합물을 여과 및/또는 원심 분리 전에 혼합 용기의 바닥에 가라앉혔다.

[0134] **표 1**은 본 발명의 방법에서 사용된 예시적인 제형의 상세한 정보를 제공한다.

*표 1*

[0135] 추출 매질의 제형

| | 제형 5CS | | 제형 AX1 | |
|---|---|---|---|---|
| | 성분 | wt% | 성분 | wt% |
| 오일 | MCT | 3.6 | R-(+)-리모넨 | 5 |
| 친수성 계면활성제 | 폴리소르베이트 80 (Tween 80) | 35.37 | 폴리소르베이트 80 (Tween 80) | 45 |
| | 크레모포 EL 피마자유* | 42.57 | | |
| 공-계면활성제 | 프로필렌 글리콜 (PG) | 8.46 | 프로필렌 글리콜 (PG) | 45 |
| 용매 | - | - | 에탄올 | 5 |
| 인지질 | Phosal 50 PG** | 10 | - | - |

[0136] * 폴리옥실 35 피마자유

[0137] ** 1.5-2.5 wt% 에탄올, >500 ppm 에틸렌메틸케톤, 0.5 wt% 물, 33.8-41.2 wt% 프로필렌 글리콜, <50.0 wt% 포스파티딜콜린, >6 wt% 리소-포스파티딜콜린으로 구성된 Phosal 50 PG

[0138] 일반적으로 유화제의 존재 하에 형성된 2개의 비혼화성 액체의 분산물인 일반적으로 알려진 에멀젼의 형성은, 분산된 액적이 응집(aggregation), 응결 (flocculation), 유착 및 상분리를 지연시키기 위해 유화제의 층에 의해 덮이도록 2개의 상 사이의 계면 장력의 감소에 기초한다. 유화제가 계면 장력을 제로로 감소시키지 않고 적용 범위가 완전하지 않기 때문에, 에멀젼은 에멀젼의 제조 시 액적 크기를 감소시키기 위해 다단계 균질기의 비교적 높은 전단력을 적용할 필요가 있다. 결과로 생긴 불균일한 액적은 상분리를 유착 및/또는 야기하려는 경향이 강하므로, 시스템을 효과적으로 안정화시킨다. 따라서, 에멀젼은 비교적 불균일하고 큰 액적 크기를 나타내며, 이는 장기간에 걸쳐 불안정하다 (즉, 액적 크기가 유착에 기인하여 증가하거나 또는 심지어 상분리를 야기할 수 있다). 또한, 일반적인 에멀젼에서는 액적 크기가 균일하지 않아, 유백색의 흰색-불투명한 외관을 야기한다. 에멀젼 매질로의 추출은 매우 빠른 상분리 및 매우 제한된 양의 추출 담지량을 야기한다.

[0139] 알려진 에멀젼과는 반대로, 본 명세서에 개시된 방법에서 사용된 추출 매질은 제로 계면 장력을 가지므로, 작고 균일한 액적 크기를 특징으로 하는 효과적으로 균형 잡힌 시스템으로서 자발적으로 형성되어 투명한 시스템을 야기한다. 이들의 효과적인 균형으로 인해, 방법에서 사용된 추출 매질 (및 결과적으로 칸나비노이드-담지된 매질)은 장기간 동안 안정하고, 수성 액체로 희석될 때도 이들의 액적 크기 및 크기 균일성을 유지하여, 이들을 다양한 약학 조성물로 제형화하는데 적합하게 하고 다양한 투여 경로 및 형태로 투여할 수 있게 한다.

[0140] 추가의 예시적인 제형은 **표 2**에 상세히 기재되어 있다.

*표 2*

[0141] 추출 매질의 제형

| | **제형 OR103(2) 서방출(slow release)** | | **제형 OR210SE** | |
|---|---|---|---|---|
| | **성분** | **wt%** | **성분** | **wt%** |
| 오일 | 트리아세틴 | 5 | MCT | 5 |
| 친수성 계면활성제 | 라브라솔 | 25 | L-1695 - 수크로오스 모노/디라우레이트 | 60 |
| | 크레모포 EL 피마자유* | 35 | | |
| 공-계면활성제 | 프로필렌 글리콜 (PG) | 20 | 프로필렌 글리콜 (PG) | 20 |
| 용매 | 이소프로필 알콜 (IPA) | 5 | 이소프로필 알콜 (IPA) | 5 |
| 인지질 | Phosal 50 PG* | 10 | Phosal 50 PG* | 10 |

[0142] * 1.5-2.5 wt% 에탄올, >500 ppm 에틸렌메틸케톤, 0.5 wt% 물, 33.8-41.2 wt% 프로필렌 글리콜, <50.0 wt% 포스파티딜콜린, >6 wt% 리소-포스파티딜콜린으로 구성된 Phosal 50 PG

[0143] 식물 공급원으로부터 CBD를 추출하는 희석 매질 (40 wt% 물)의 능력뿐만 아니라, (제형 5CS의 추출 매질에서 오일 성분으로서) MCT 대신에 올리브유를 포함하는 제형의 능력도 평가하였다. **도 3**에서 알 수 있는 바와 같이, 올리브유는 추출 매질에서 오일 성분으로서도 적합하다. 또한, 희석 매질도 식물 물질로부터 CBD를 추출할 수 있는 능력을 나타내며, 심지어 농축 제형에 비해 약간 더 높은 CBD 농도를 나타낸다.

[0144] 추출 매질에 의한 식물 시료로부터 CBD의 추출

[0145] *식물 시료의 칸나비노이드 프로파일*

[0146] 다양한 품종의 칸나비스를 본 발명의 추출 방법에서 시험하였다. (상기 기재된) 에탄올 추출 및 HPLC 분석에 의해 추출 매질로 추출하기 전에 식물 시료를 칸나비노이드 프로파일에 대해 평가하였다. 다양한 품종의 칸나비노이드 프로파일은 **표 3**에 제공된다.

*표 3*

[0147] 일부 품종의 칸나비노이드 프로파일

| **품종** | **CBVD (%)** | **CBG (%)** | **CBD (%)** | **$\Delta^9$-THC (%)** | **CBN (%)** |
|---|---|---|---|---|---|
| M1 | - | - | - | 1.1 | 미량 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| M1-L | 0.5 | 0.1 | 6.7 | 0.7 | 미량 |
| M(1)-1 | 0.2 | 1.7 | 12.3 | 0.6 | 미량 |
| M(1)-3 | 0.5 | 0.2 | 10.6 | 0.5 | 미량 |
| M(3)-1 | 0.8 | 0.1 | 11.0 | 0.5 | 미량 |
| M(3)-2 | 0.6 | 0.1 | 9.4 | 0.4 | 미량 |

[0148] 본 명세서에 기재된 모든 추출 매질 과정은 160℃에서 15분 동안 가열된 식물 시료에서 수행되었다. 하기의 실험 모두는 M(1)-1 품종에서 수행되었다.

[0149] *추출 기간의 효과*

[0150] (가열 후의) 식물 시료를 AX-1 추출 매질과 1:40의 중량비로 혼합하였다. 그 다음, 혼합물을 실험실 실버슨 균질기 L5M-A를 이용하여 실온에서 30분 동안 균질화시켰다. 균질화 후, 각 시료를 4000 rpm에서 20분 동안 원심분리하거나 또는 탈지면을 통해 여과하였다. 시료는 3개를 준비하였다.

[0151] 추출물 내 칸나비노이드 함량의 분석은 검량선에 대해 HPLC로 수행하였다. **도 4** 및 **도 5**는 추출 시간의 함수로서, 각각 추출물 내 CBD 농도 및 추출 수율을 나타낸다. 식물 시료 (CBDA, THC 및 CBN)에서 CBD 피크 면적과 다른 칸나비노이드의 피크 면적 사이의 비를 **도 6**에 나타낸다.

[0152] 결과로부터 명백하게 알 수 있는 바와 같이, 추출 매질은 CBD에 대해 매우 선택적이다. 1회 추출 후, 매질은 THC와 비교하여 적어도 35-배의 CBD를 함유하고, 추출 시간이 증가함에 따라 선택도가 감소된다. CBD 대 CBDA의 비는 27:1에서 시작하여 CBDA에 비해 CBD가 적어도 14배 떨어진다. 이는 본 명세서에 기재된 추출 매질로 식물 공급원의 추출이 다른 시판 제품과 비교하여 현저히 낮은 농도의 THC를 갖는 CBD-농축 생성물을 얻는데 사용될 수 있음을 시사한다.

[0153] **도 4**에서 관찰되는 바와 같이, 20분의 추출 후 정체기(plateau)에 도달한다. 20분을 넘으면, CBD 농도 또는 추출 수율은 현저히 증가하지 않는다. 또한, **도 5**에서 알 수 있는 바와 같이, 단일 추출 과정은 식물 공급원으로부터 CBD의 55 내지 75%의 추출을 산출하였다. 이러한 이유로, 다음 추출을 위해 30분의 시간이 선택되었다.

[0154] **도 6**에서 알 수 있는 바와 같이, CBD 대 다른 칸나비노이드의 비를 살펴보면 추출 시간이 길수록 비가 낮아짐을 나타내고, 이는 여분의 시간이 CBD에 비해 다른 칸나비노이드가 더 빨리 추출될 수 있게 하는 것을 의미한다.

[0155] *식물-대-마이크로에멀젼 비의 효과*

[0156] 식물-대-매질 비가 추출 효율에 미치는 영향은 다양한 식물 공급원 대 추출 매질 비의 혼합물을 분석하여 평가하였다.

[0157] (가열 후의) 식물 시료를 AX-1 추출 매질과 1:15 내지 1:60 (식물:매질)의 중량비로 혼합하였다. 그 다음, 혼합물을 실버슨 균질기를 이용하여 실온에서 30분 동안 균질화시켰다. 균질화 후, 각 시료를 4000 rpm에서 20분 동안 원심 분리하거나 또는 탈지면을 통해 여과하였다. 시료는 3개를 준비하였다.

[0158] 추출물 내 CBD 함량의 분석은 검량선에 대해 HPLC로 수행하였다. **도 7** 및 **도 8**은 식물-대-매질 비의 함수로서, 각각 추출물 내 CBD 농도 및 추출 수율을 나타낸다. 식물 시료 (CBDA, THC 및 CBN)에서 CBD 피크 면적과 다른 칸나비노이드의 피크 면적 사이의 비를 **도 9**에 나타낸다.

[0159] 추출 수율은 식물:매질 비의 증가에 따라 감소하지만, 모든 중량비에서 추출의 선택도는 명백하다. 선택도는 THC 분자와 비교하여 계면활성제 꼬리 및 시스템 코어와 상호작용하는 CBD 분자의 선호에 의해 조절되며, 주된 요인은 분자의 극성 및 구조이다. 이는 다양한 칸나비노이드의 선택적 추출이 추출 매질의 극성을 변화시켜 맞게 조정될 수 있음을 시사한다.

[0160] *다중-추출 과정*

[0161] 추출 매질에서 CBD 농도의 증가는 다중-추출 과정에 의해 수행되었다. 다중-추출 과정의 경우, 여러 추출 주기에 대해 동일한 할당량의 추출 매질을 사용하여 다수의 추출 주기를 수행하며, 각 주기마다 하기 절차에 따라 새로운 식물 시료를 추출한다.

[0162] 가열된 식물 시료를 AX-1 추출 매질과 1:15의 중량비로 혼합하였다. 그 다음, 혼합물을 실버슨 균질기를 이용하여 실온에서 30분 동안 균질화시켰다. 균질화 후, 시료를 4000 rpm에서 20분 동안 원심 분리하거나 또는/및 탈지면을 통해 여과하였다. 사용된 바이오매스로부터 CBD-담지된 매질을 분리한 후, CBD-담지된 매질을 칭량하고,

새로운 식물 시료를 1:15 (식물:매질)의 중량비로 첨가하였다. 새로운 혼합물에 대해 균질화 및 분리를 수행하였다. 2회의 추가 추출 주기를 수행하여, 총 4회의 추출 주기가 되었다. 총 3회의 다중-추출 과정이 수행되었다.

[0163] 주기 횟수가 칸나비노이드 프로파일 및 매질의 CBD 담지량에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 주기 중간에 매질의 시료를 채취하였다.

[0164] 상기 설명에 따라, CBD 함량의 분석을 수행하였다. **도 10** 및 **도 11**은 추출 주기의 횟수의 함수로서, 각각 추출물 내 CBD의 농도 및 추출 수율을 나타낸다. 시료에서 다양한 칸나비노이드의 함량은 **도 12**에 나타낸다.

[0165] 결과로부터 명백한 바와 같이, 추출 매질 내 CBD 함량은 다중-추출 과정의 결과로서 적어도 2-배까지 증가한다. 그러나, 추출 매질이 CBD로 담지될 때, CBD 함량이 추출 매질의 최대 담지 용량에 근접(proximity)하기 때문에, 제 1 추출 주기에서의 추출 효율에 비해 추출 매질의 추출 효율이 감소한다. 이러한 감소와 관계없이, 추출의 선택도는 과정 주기 동안 내내 유지된다

[0166] *기준 추출 매질*

[0167] 특정 칸나비노이드에 대한, 특히 CBD의 추출에 대한 본 명세서에 기재된 추출 매질의 선택도를 입증하기 위하여, 식물 시료를 에탄올 또는 석유 에테르로 추출하였다. 두 용매는 모두 알려져 있으며, 칸나비노이드 추출에 사용된다. 추출 과정은 상기 기재된 바와 같이 본 발명의 추출 매질로 수행된 과정과 동일하였다.

[0168] 결과는 **도 13-14**에 제공되며, HPLC에 의해 측정된 CBD 및 다른 추출된 칸나비노이드 사이의 양 비를 나타낸다.

[0169] 명백하게 알 수 있는 바와 같이, 에탄올 및 석유 에테르 모두에서 수행된 추출은 최대 22:1의 CBD:THC 비를 나타낸 반면, 추출 매질을 이용한 추출은 ~35:1의 CBD:THC 비를 나타내었다. 즉, 본 명세서에 기재된 추출 매질은 다른 칸나비노이드에 비해 CBD의 추출에 대해 높은 선택도를 제공하여, 매우 낮은 수준의 THC를 갖는 추출 생성물을 얻을 수 있게 한다.

[0170] 또한, **표 4**에서 알 수 있는 바와 같이, 추출 매질 내 CBD의 담지 용량은 에탄올 또는 석유 에테르에 대해 얻은 것보다 상당히 더 높으며, 이는 식물 공급원으로부터 CBD를 정량적으로 추출하기 위한 추출 매질의 능력을 입증한다.

***표 4***

[0171] 추출 매질 대 에탄올 및 석유 에테르의 비교 CBD 담지량

| **추출 과정** | **CBD 담지량 (mg/ml)** |
|---|---|
| AX-1 | >6* |
| 에탄올 | 1.2 |
| 석유 에테르 | 0.9 |

[0172] * 1회의 추출 주기 후. 4회의 추출 주기 후에 최대 22 mg/ml를 얻었다.

[0173] *제형의 안정성*

[0174] 5CS 및 AX2 추출 매질 (**표 5-1** 참조)은 5 wt% CBD를 담지하고, 상이한 조건 하에서 (보호 없음, 600 ppm의 α-토코페롤 아세테이트의 첨가, 및 질소 분위기 하에서) 3가지 상이한 온도 (4, 25 및 40℃)에서 배양하였다. 농축물 및 희석된 마이크로에멀젼 (80% 물)을 시험하였다.

[0175] [표 5-1]

안정성 시험을 위한 마이크로에멀젼의 제형

| | 제형 5CS | | 제형 AX2 | |
|---|---|---|---|---|
| | 성분 | wt% | 성분 | wt% |
| 오일 | MCT | 3.6 | MCT | 5 |
| | | | 올레산 | 2 |
| 친수성 계면활성제 | 폴리소르베이트 80 (Tween 80) | 35.37 | 폴리소르베이트 80 (Tween 80) | 35 |
| | 크레모포 EL 피마자유* | 42.57 | 크레모포 EL 피마자유* | 32 |
| | | | 글리세롤 | 6.5 |
| 공-계면활성제 | 프로필렌 글리콜 (PG) | 8.46 | 프로필렌 글리콜 (PG) | 9 |
| 용매 | - | - | 에탄올 | 5.5 |
| 인지질 | Phosal 50 PG** | 10 | 포스파티딜콜린 | 5 |

[0176]

[0177] * 폴리옥실 35 피마자유

[0178] ** 1.5-2.5 wt% 에탄올, >500 ppm 에틸렌메틸케톤, 0.5 wt% 물, 33.8-41.2 wt% 프로필렌 글리콜, <50.0 wt% 포스파티딜콜린, >6 wt% 리소-포스파티딜콜린으로 구성된 Phosal 50 PG

[0179] 30일간의 배양 후, 시료의 시각적 외관을 기록하였다. 결과를 **표 5-2**에 상세히 기재하였다.

[0180] [표 5-2]

CBD-담지된 매질의 안정성

| 추출 조건 | 배양 온도 | 5CS | | AX2 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 농축물 | 80% 희석 | 농축물 | 80% 희석 |
| 보호 없음 | 4 ℃ | 안정 | 안정 | 안정 | 안정 |
| | 25 ℃ | 안정 | 안정 | 안정 | 안정 |
| | 40 ℃ | 노르스름 (Yellowish) | N/A | 노르스름 | N/A |
| 600ppm α-토코페롤 아세테이트 | 4 ℃ | 안정 | 안정 | 안정 | 안정 |
| | 25 ℃ | 안정 | 안정 | 안정 | 안정 |
| | 40 ℃ | 노르스름 | 안정 | 노르스름 | 안정 |
| 질소 분위기 | 4 ℃ | 안정 | 안정 | 안정 | 안정 |
| | 25 ℃ | 안정 | 안정 | 안정 | 안정 |
| | 40 ℃ | 안정 | 노르스름 | 안정 | 노르스름 |

[0181]

[0182] 명백하게 알 수 있는 바와 같이, CBD-담지된 매질은 매우 다양한 조건에서 안정하다, 즉, 대부분의 시험 시료는 상분리 또는 침전에 대한 아무런 표시 없이 투명하게 유지되었다.

[0183] *장기간 안정성*

[0184] 5CS 및 AX1 추출 매질 (상기 표 **1** 참조)을 사용하여 하기 절차에 따라 식물 공급원으로부터 CBD를 추출하였다: 1:15 w/w 비의 식물:ME, 200℃에서 균질화하면서 30분의 추출 시간. 2회의 추출 주기를 수행하고, 각 주기마다 시료를 모았다. 3가지 상이한 온도 (4, 25 및 40℃)에서 70일 동안 시료를 배양하였다. 시료를 희석하지 않았다 (즉, 농축물 시료에서 시험을 수행하였다)

[0185] **도 15a** 및 **15b**에서 명백하게 알 수 있는 바와 같이, 농축물 형태의 CBD-담지된 매질은 색의 변화 또는 상분리 또는 침전의 관찰없이 장기간 동안 안정하다.

[0186] PK 연구

[0187] 올리브유에 가용화된 CBD와 비교하여, AX-1 및 5CS CBD-담지된 제형의 경구 투여 후 혈장 내 CBD 농도를 측정하여 약동학 (PK) 프로파일을 평가하였다.

[0188] 수컷 랫트 (평균 250g)를 이 PK 연구에 사용하였고, 2단계로 수행하였다: 제 1 단계에서는 올리브유에 가용화된 결정성 CBD를 랫트에게 경구 투여하였고, 제 2 단계에서는 AX-1 또는 5CS CBD-담지된 제형을 위관 영양법 (gavage)을 통해 경구 투여하였다. 혈액 시료를 상이한 시점에서 헤파린화된 EDTA-K3 튜브로 모으고, 얼음에 저장하였다. 3,000 rpm으로 미리-냉각시킨 원심 분리에 의해 각 시료로부터 혈장을 분리하고, -80±10℃의 깨끗한

멸균 튜브에 저장하였다. 투여 24시간 후에, 랫트를 희생시켰다.

[0189] **도 16**은 상이한 용량의 제형의 투여 후 0.5시간 및 2시간에서의 혈장 내 CBD 수준을 나타낸다. AX-1 및 5CS 제형의 경우, 혈장에서 측정된 CBD 농도는 올리브유에 가용화된 CBD와 비교하여 0.5시간 후에 더 높았다. 투여 2시간 후, CBD 혈장 수준은 AX-1 및 올리브유에서 유사하였지만, 5CS 시스템은 CBD 농도의 유의한 증가를 나타내었다.

[0190] 따라서, 본 발명의 제형은 빠른 생체이용률을 나타내고, 0.5시간 대 약 4시간의 Tmax와 함께, 올리브유 용액에 비해 혈장 내 CBD 수준을 증가시킨다.

[0191] In-vivo 연구

[0192] *통증에 대한 반응*

[0193] 본 발명의 추출된 칸나비스 식물 공급원 (CBD-담지된) 매질의 마우스에서의 통증 및 항-염증 활성에 대한 반응을, 종래의 에탄올 추출법과 비교하여 5CS 추출 매질을 이용한 칸나비스 식물로부터의 추출물의 경구 투여에 의해 평가하였다.

[0194] 5CS 추출 매질 및 에탄올 추출물을 하기 프로토콜에 따라 5, 10, 25 및 50 mg 식물 물질/kg 체중 랫트와 동등한 4가지 상이한 농도로 개별적으로 제조하였다.

[0195] 8주령의 암컷 사브라(Sabra) 마우스 3마리를 연구 개시 전에 SPF 단위로 7일 동안 부양하였다. 0.9% 식염수에 현탁된 1.5% (w/v) 자이모산 A (Zymosan A) (sigma) 40㎕를 각 마우스의 우측 뒷발의 서브-플랜터(sub-planter) 표면에 주사 하였다. 유발 직후, 칸나비스 식물 공급원으로부터의 추출물을 염증 유발 마우스에게 경구 투여하였다. 추출은 종래의 에탄올 추출 또는 '5CS 추출 매질'에 의해 수행되었다. 양성 대조군으로서 3마리의 유발 마우스를 치료하지 않고 방치하였다. '추출 매질'로 처리된 마우스는 담지된 5CS를 직접 경구 투여한 반면, '에탄올 추출'은 에탄올을 먼저 증발시키고 침전된 물질을 올리브유에 재-현탁시켰다.

[0196] 치료 효과는 각 kg 체중 당 10, 25 및 50 mg의 추출된 식물 공급원을 포함하는 추출된 물질의 다양한 투여량으로 평가되었다. 처리 6시간 후, 염증이 있는 발의 부기(swelling)를 캘리퍼를 이용하여 측정하였다. 또한, 처리 24시간 후, 제조자의 지시에 따라 ELISA 키트 (R&D system)를 이용하여 TNF-α (종양 괴사 인자) 수준을 측정하였다.

[0197] TNF-α는 경구 처리 후 24시간에 채취한 혈장 시료의 ELISA 키트로 평가하였다. **도 17**은 에탄올에 의한 추출물 및 올리브유에서의 분산물과 비교하여 5CS 추출 매질에 대한 TNF-α 수준을 나타낸다. **도 18**은 올리브유에 분산된 에탄올에 의한 추출물과 비교하여 추출 매질 5CS로 처리된 마우스에서 염증이 있는 발의 발-두께를 나타낸다.

[0198] '5CS 추출 매질'의 투여는 훨씬 적은 감소를 보이는 에탄올 추출물로 처리된 마우스와 비교하여 모든 주어진 투여량 (5, 25 및 50 mg/kg) 내에서 (대조군 미처리 마우스에 비해) 발의 부기를 현저하게 감소시켰다. 이러한 결과는 에탄올 추출물과 비교하여 '추출 매질'을 이용한 염증이 더 큰 효율로 감소함을 나타낸다. TNF-α 혈장 수준은 시험된 모든 투여량에서 에탄올 추출물과 비교하여 '5CS 추출 매질'로 처리된 마우스에서 상당히 낮았다.

[0199] 5CS 추출 매질을 이용한 TNF-α 수준의 감소 (대조군 미처리 마우스의 350 pg에 비해 250 pg)는 비교적 적은 투여량 (5 mg/kg)을 이용한 경우에도 나타난 반면, 동일한 투여량에서의 에탄올 추출물을 이용한 경우에는 TNF-α 수준에 영향을 미치지 않았으며, 미처리 마우스에서 측정된 것과 거의 유사하였다 (각각, 320 대 350 pg).

[0200] 도 18에서 알 수 있는 바와 같이, 시험된 모든 투여량에서, 본 발명의 CBD-담지된 매질로 투여된 마우스는 투여 24시간 후에 낮은 TNF-α 수준을 나타내어, 에탄올에 의해 추출된 CBD의 염증에 비해 감소된 염증을 야기하였다. 이것은 추출 매질의 개선된 추출, 방출 및 침투 (성능)를 입증한다.

[0201] 또한, 도 17에서 알 수 있는 바와 같이, 본 발명의 추출 매질로 투여된 마우스는 에탄올에서 추출되고 올리브유에 용해된 CBD의 동일한 투여량과 비교하여 시험된 모든 투여량에서 발 두께의 더 현저한 감소를 나타내었다. 즉, 본 발명의 제형은 표준 에탄올 CBD 추출물과 비교하여 개선된 항-염증 활성을 가진다.

[0202] *지연형 과민증(Delayed-type hypersensitivity; DTH)*

[0203] CBD는 염증 반응 및 염증성 반응에 의해 영향을 받는 통증을 감소시키는 것으로 나타났다. 이론에 얽매이지 않

고, 염증 감소는 CB1 수용체, 아데노신 수용체 및 IL-2, IL-6, TNF-α, MCP-1 등과 같은 염증성 사이토카인 및 케모카인 수준의 감소에 관여하는 다른 GPCRs에 결합하는 작용제 및 길항제를 포함하여, 다양한 기전에 의해 달성된다.

[0204] 항염증제로서 본 발명의 CBD-담지된 제형의 경구 투여의 치료 효과. 랫트의 염증 모델 - 지연형 과민증 (DTH) 모델을 이용하여 CBD 효과를 평가하였다. 이 시험에서, 처리에 따라 염증-유발 후, 귀 부기의 감소를 측정하였다.

[0205] 수컷 랫트 (평균 체중 250g)의 배(belly)를 면도하고, 500μl의 2% 옥사졸론 (16ml의 아세톤 및 4ml의 광유에 용해된 400mg의 옥사졸론)으로 10회 접종하였다. 다음날 (본 명세서에서 1일이라고 함), 위관 영양법을 통해 500μl의 CBD 제형을 경구 처리하였다. 6일째에, 캘리퍼를 이용하여 랫트의 귀 두께를 측정하였다.

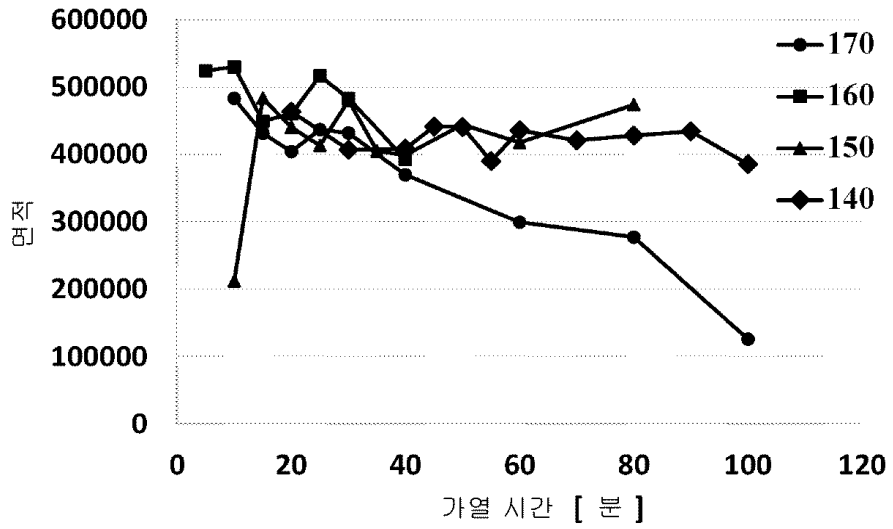
[0206] 랫트에게 다른 용량의 50μl의 0.5% 옥사졸린을 접종하고, 500μl의 CBD 제형의 제 2 경구 처리를 접종 2시간 후에 투여하였다. 접종 후 12시간 및 24시간에 귀 두께를 다시 측정하고, 혈청 준비를 위해 혈액 시료를 채취하였다.

[0207] 시료 조성: 순수한 랫트 및 어떠한 처리도 받지 않은 DTH-유발 랫트의 대조군과 비교하여, 24mg/kg BW 및 48mg/Kg BW (BW=체중)의 용량으로 5CS에서 추출된 CBD를 2회 투여하였다.

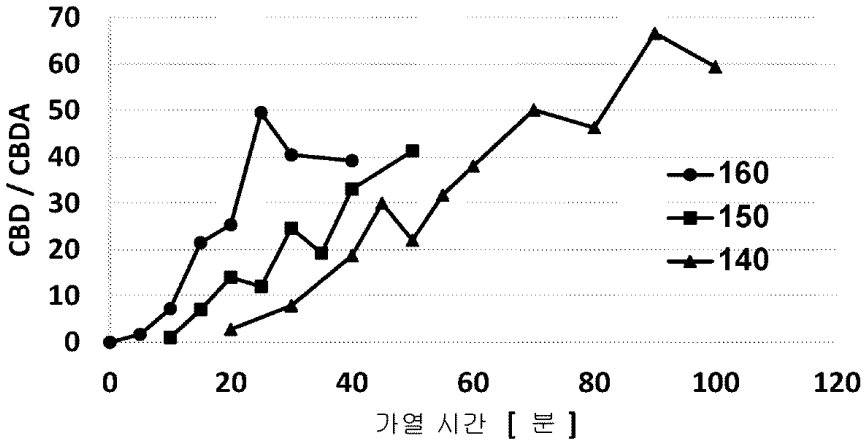
[0208] **도 19** 및 **도 20A-D**에서 알 수 있는 바와 같이, 5CS로 추출한 CBD로 처리한 결과로, 처리되지 않은 DTH-유발 랫트와 비교하여, 귀 두께 및 염증성 외관 (발적 및 부종)의 유의한 감소가 얻어졌다. 5CS로 추출한 CBD의 항-염증 효과는 두 용량 요법으로 에탄올 추출물에서 관찰된 것보다 더 유의하다.

## 도면

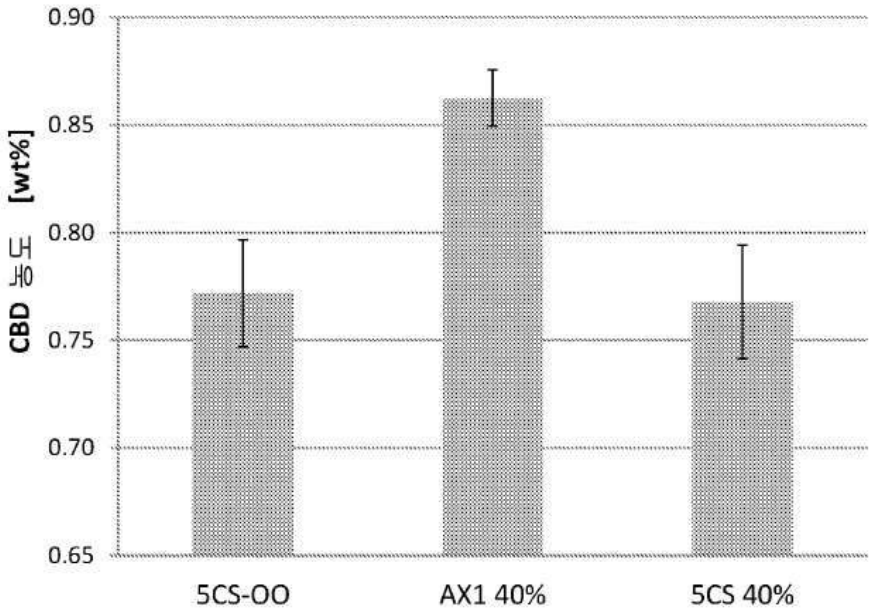
### 도면1



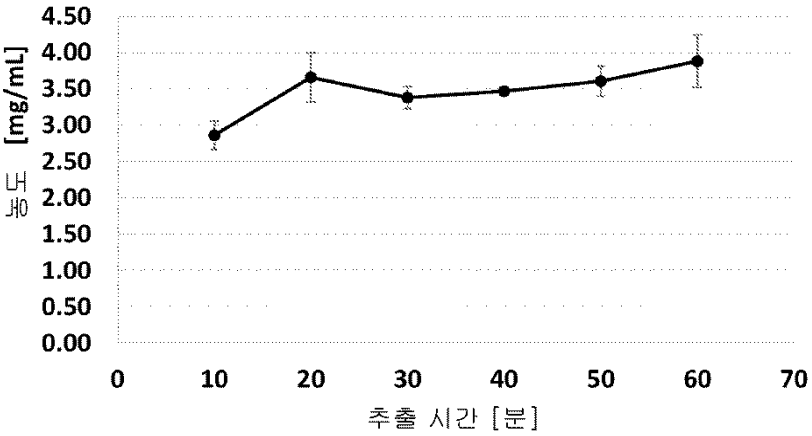
도면2


CBD / CBDA
70
60
50
40
30
20
10
0
0
20
40
60
80
100
120
가열 시간 [ 분 ]
160
150
140

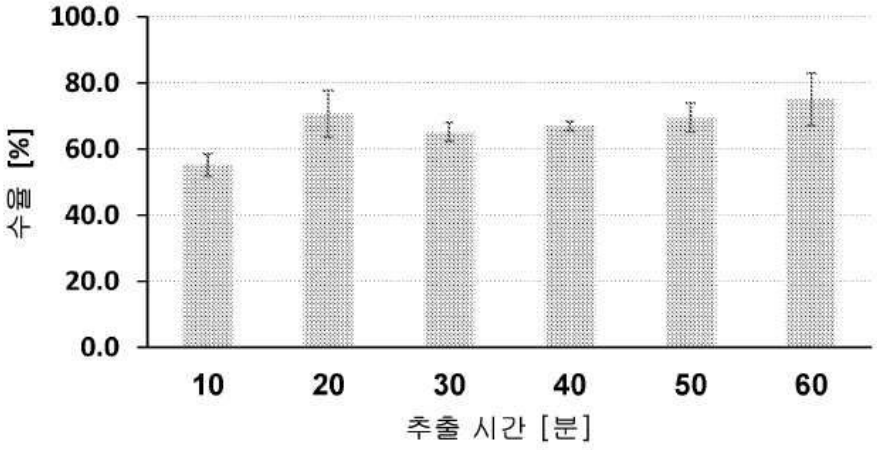
도면3


CBD 농도 [wt%]
0.90
0.85
0.80
0.75
0.70
0.65
5CS-OO
AX1 40%
5CS 40%

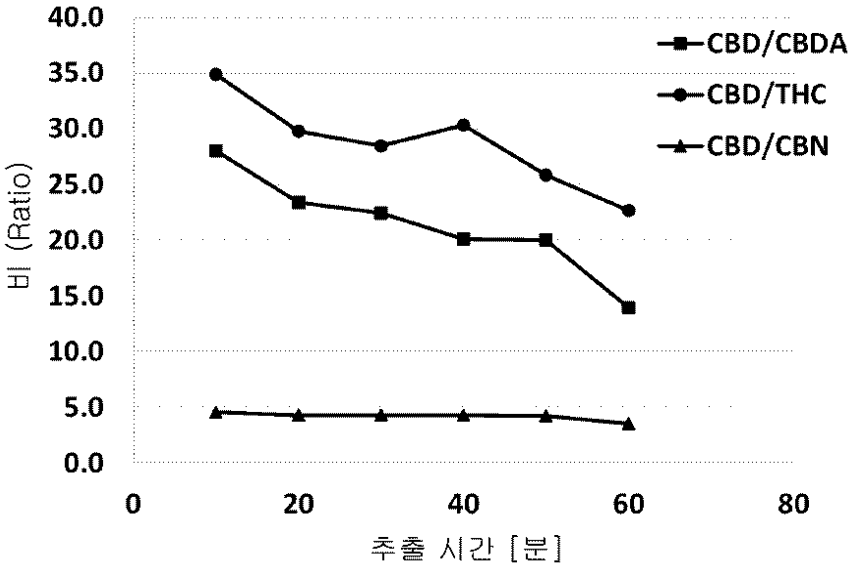
도면4


농도 [mg/mL]
4.50
4.00
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
0
10
20
30
40
50
60
70
추출 시간 [분]

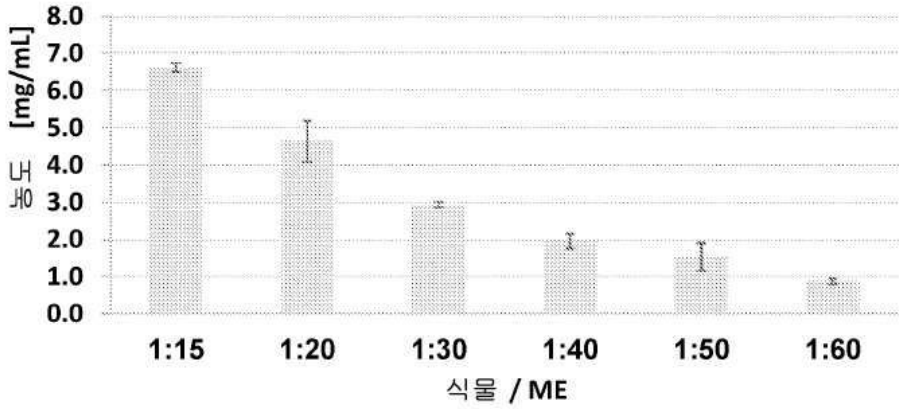
도면5


100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
수율 [%]
10
20
30
40
50
60
추출 시간 [분]

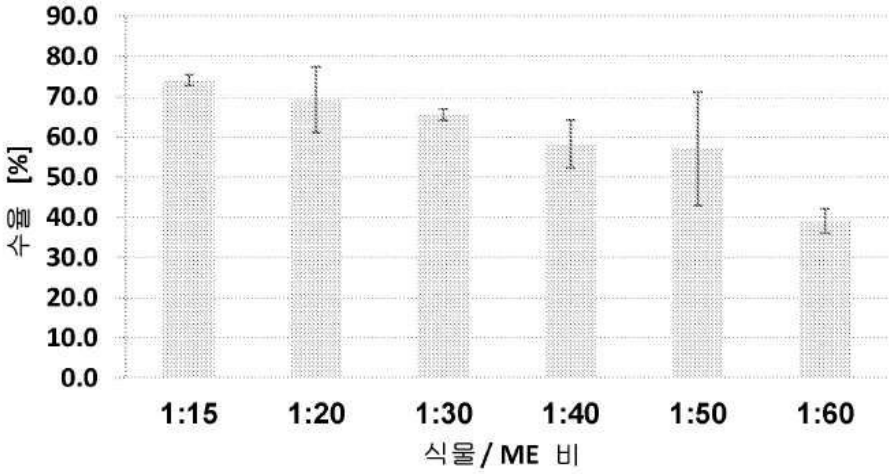
도면6


40.0
35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
비 (Ratio)
CBD/CBDA
CBD/THC
CBD/CBN
0
20
40
60
80
추출 시간 [분]

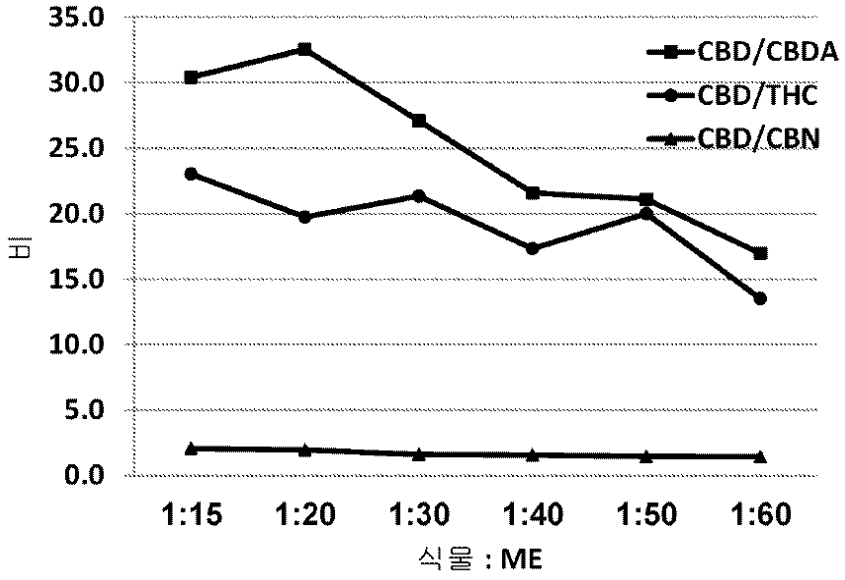
도면7


8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
농도 [mg/mL]
1:15
1:20
1:30
1:40
1:50
1:60
식물 / ME

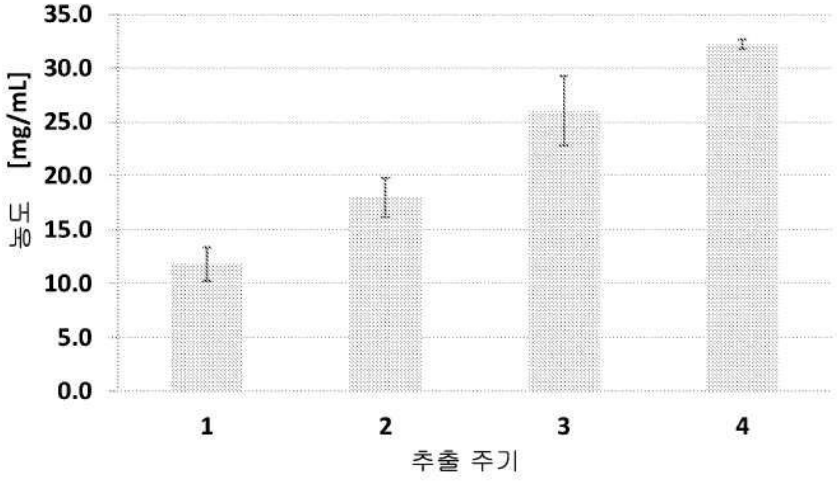
도면8


90.0
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
수율 [%]
1:15
1:20
1:30
1:40
1:50
1:60
식물 / ME 비

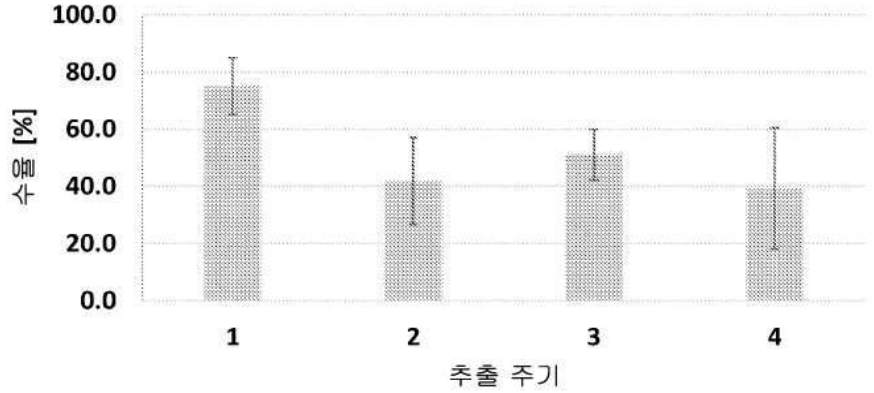
도면9


35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
비
CBD/CBDA
CBD/THC
CBD/CBN
1:15
1:20
1:30
1:40
1:50
1:60
식물 : ME

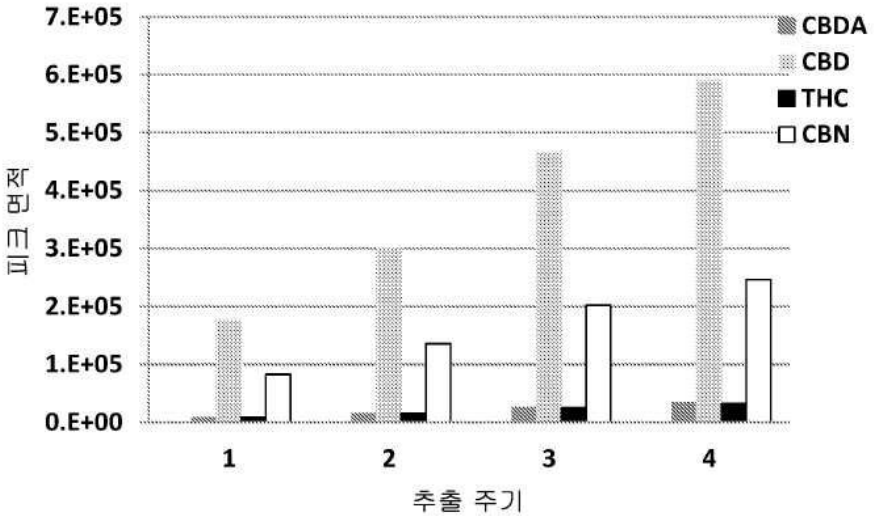
도면10


35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
농도 [mg/mL]
1
2
3
4
추출 주기

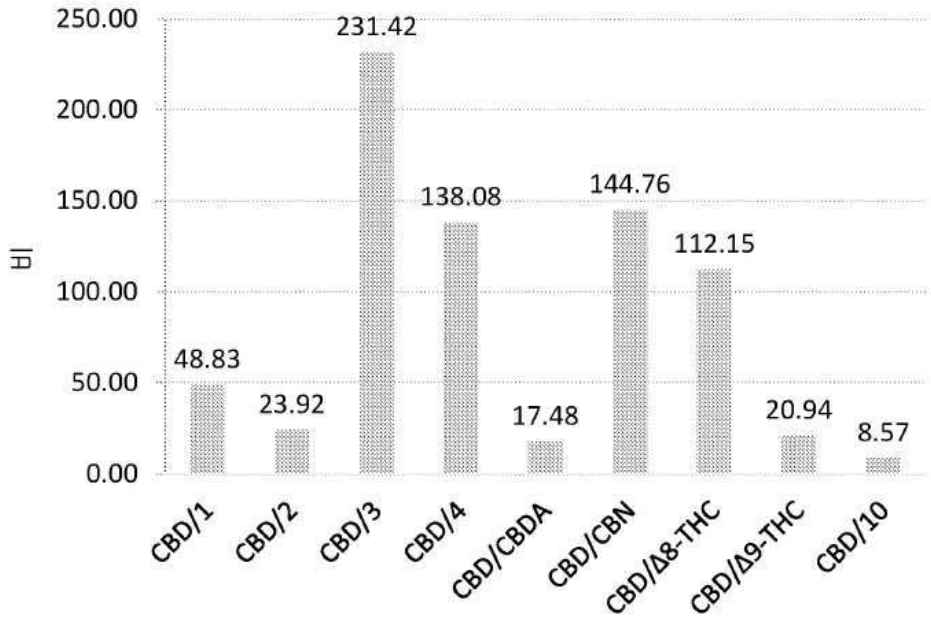
도면11



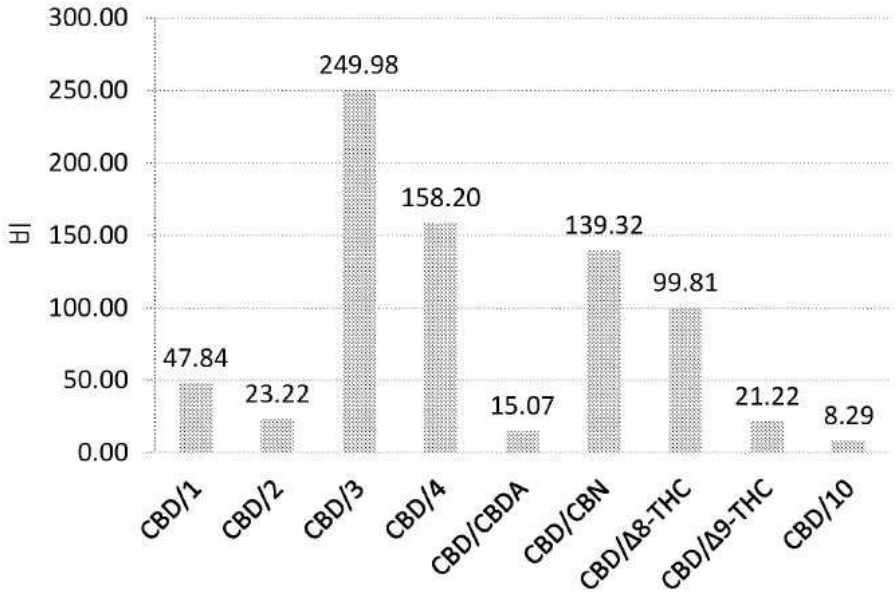

도면12



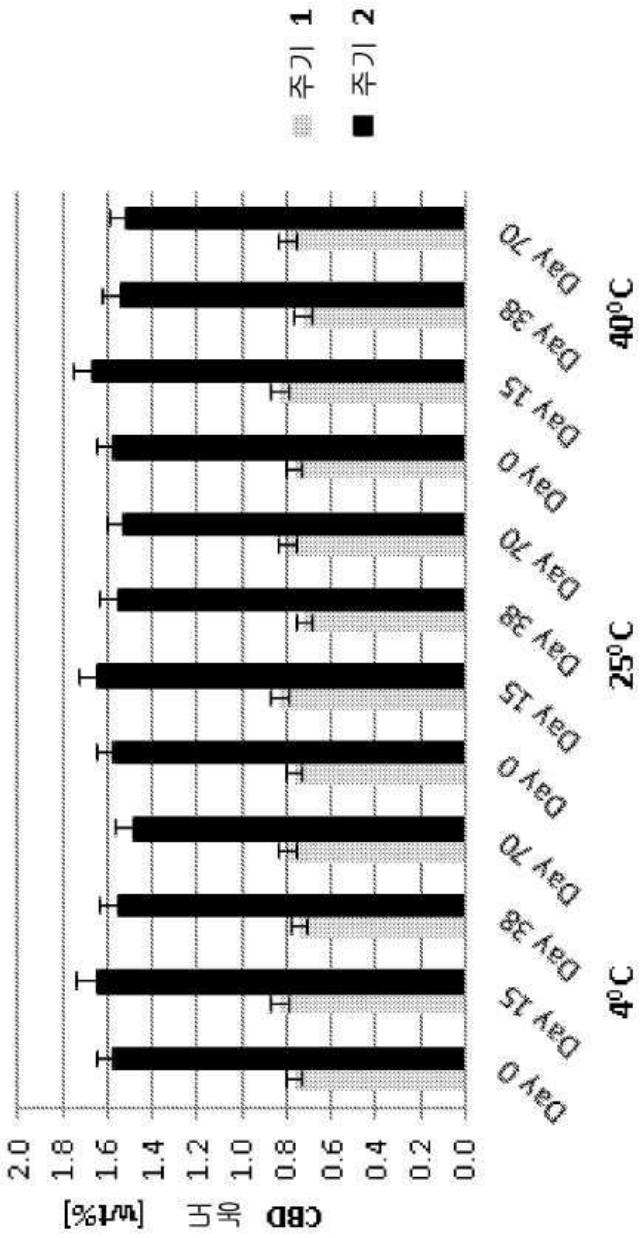

도면13



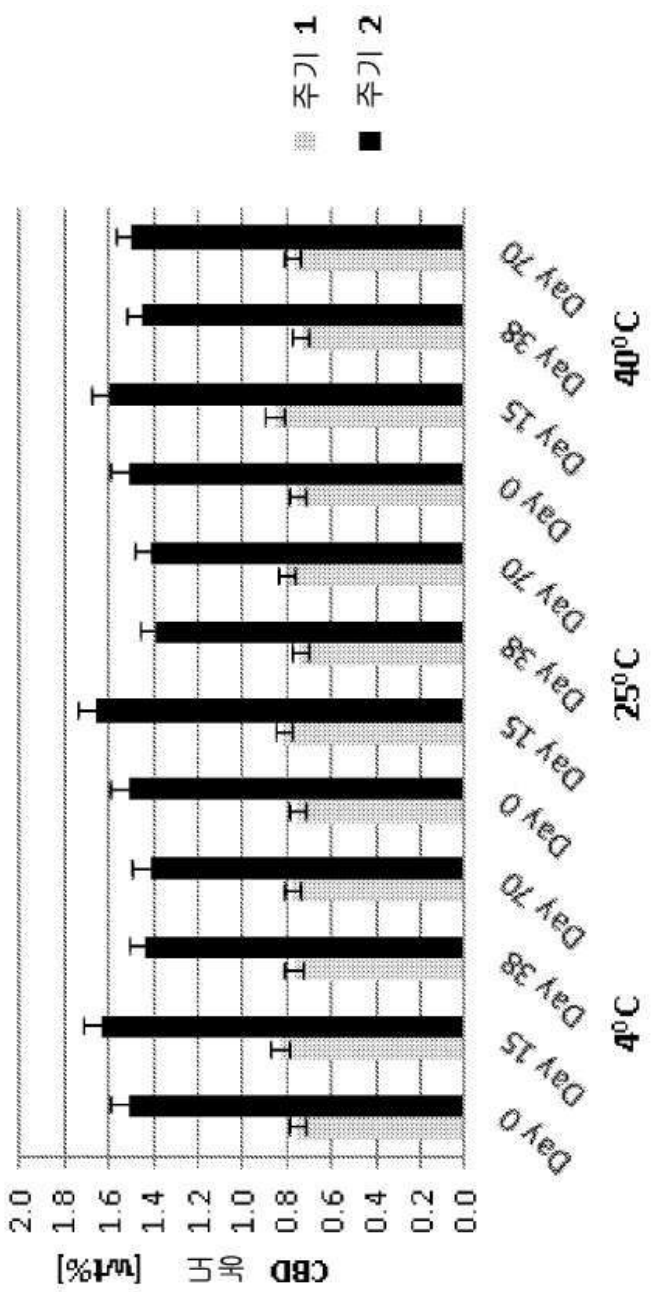
도면14


300.00
250.00
200.00
150.00
100.00
50.00
0.00
HI
47.84
23.22
249.98
158.20
15.07
139.32
99.81
21.22
8.29
CBD/1
CBD/2
CBD/3
CBD/4
CBD/CBDA
CBD/CBN
CBD/Δ8-THC
CBD/Δ9-THC
CBD/10

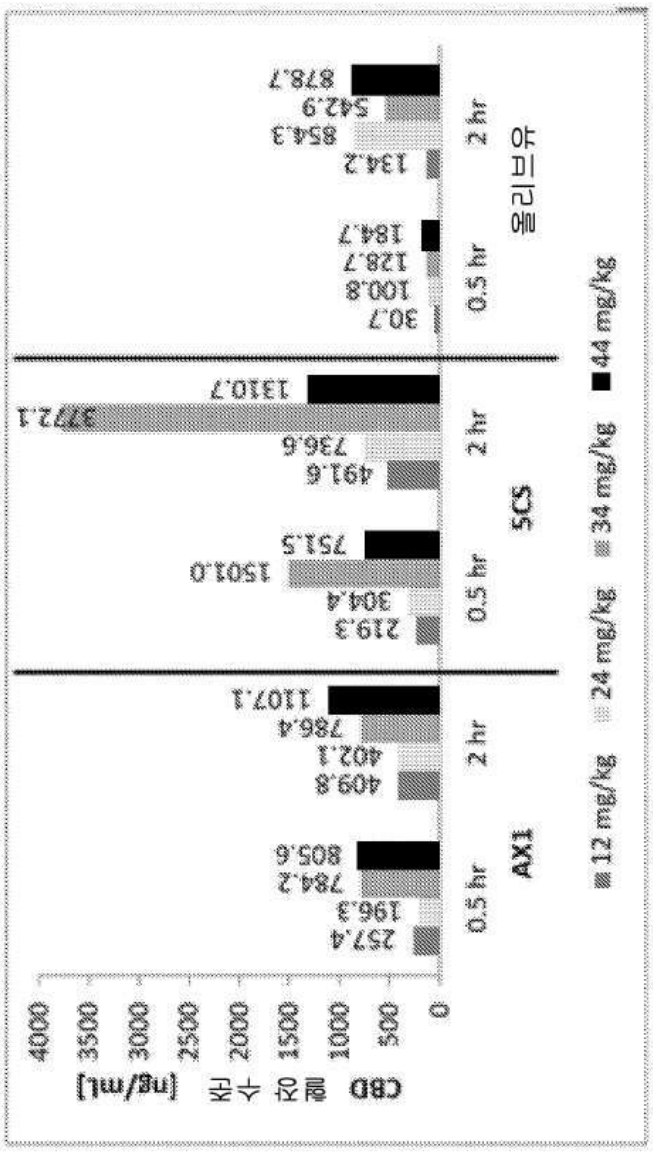
도면15a


주기 1
주기 2
CBD 농도 [wt%]
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
Day 0
Day 15
Day 38
Day 70
4°C
Day 0
Day 15
Day 38
Day 70
25°C
Day 0
Day 15
Day 38
Day 70
40°C

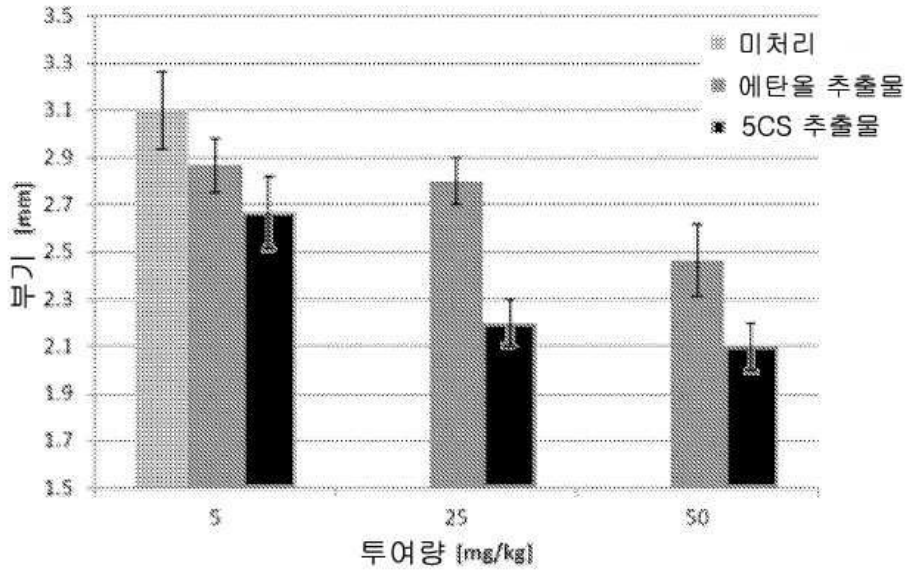
도면15b


주기 1
주기 2
CBD 농도 [wt%]
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
4°C
25°C
40°C
Day 0
Day 15
Day 38
Day 70
Day 0
Day 15
Day 38
Day 70
Day 0
Day 15
Day 38
Day 70

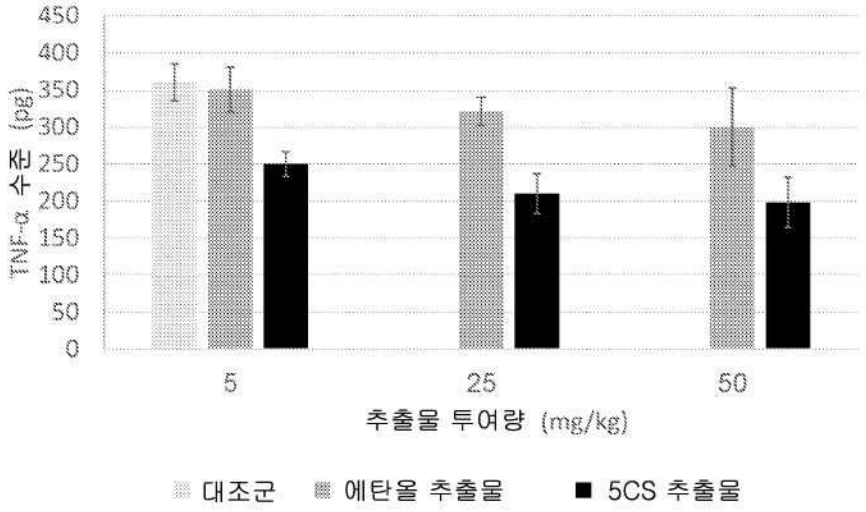
도면16


CBD 혈장 수준 [ng/mL]
0
500
1000
1500
2000
2500
3000
3500
4000
AX1
SCS
올리브유
0.5 hr
2 hr
12 mg/kg
24 mg/kg
34 mg/kg
44 mg/kg
257.4
196.3
784.2
805.6
409.8
402.1
786.4
1107.1
219.3
304.4
1501.0
751.5
491.6
736.6
3772.1
1310.7
30.7
100.8
128.7
184.7
134.2
854.3
542.9
878.7

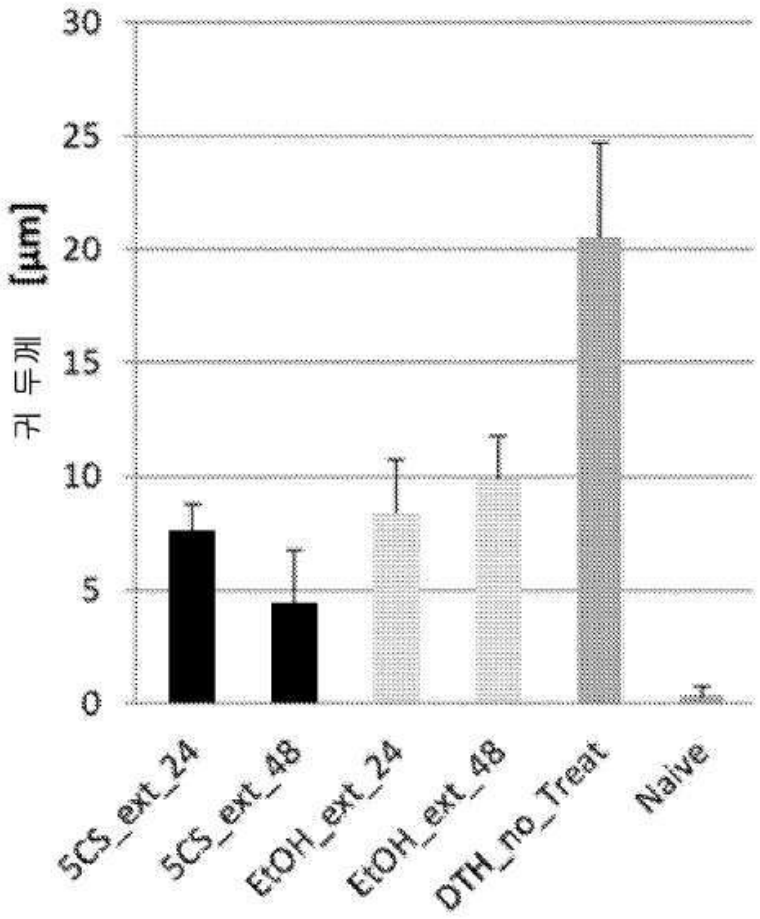
도면17


3.5
3.3
3.1
2.9
2.7
2.5
2.3
2.1
1.9
1.7
1.5
부기 (mm)
미처리
에탄올 추출물
5CS 추출물
5
25
50
투여량 (mg/kg)

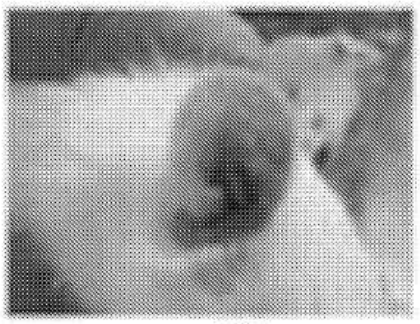
도면18


450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
TNF-α 수준 (pg)
5
25
50
추출물 투여량 (mg/kg)
대조군
에탄올 추출물
5CS 추출물

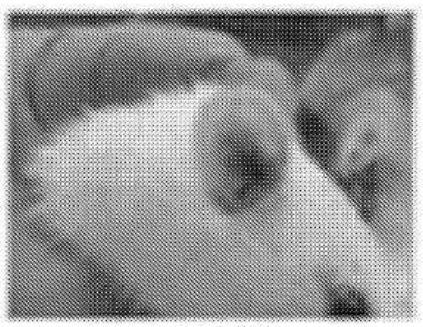
도면19


귀 두께 [μm]
30
25
20
15
10
5
0
SCS_ext_24
SCS_ext_48
EtOH_ext_24
EtOH_ext_48
DTH_no_Treat
Naive

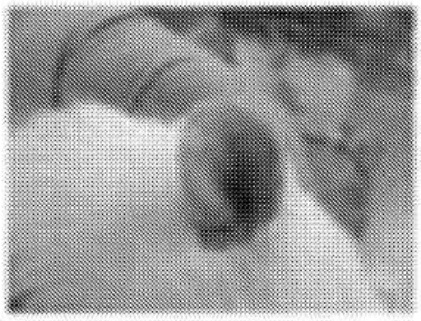
도면20



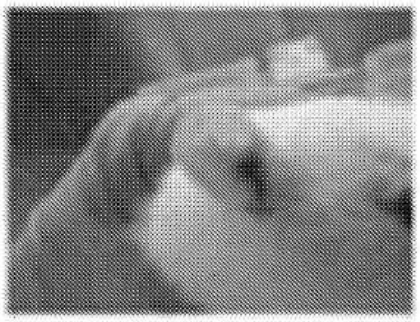
도 20A



도 20B



도 20C



도 20D