

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 000 752**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/05</b>	(2006.01)
<b>A61K 45/06</b>	(2006.01)
<b>A61K 36/185</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/352</b>	(2006.01)
<b>A61P 25/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 25/08</b>	(2006.01)
<b>B01D 9/00</b>	(2006.01)
<b>B01D 11/02</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.04.2019 PCT/GB2019/051173**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **31.10.2019 WO19207319**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.04.2019 E 19721363 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2024 EP 3784283**

54 Título: **Preparaciones de canabidiol y sus usos**

30 Prioridad:

**27.04.2018 GB 201806953**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.03.2025**

73 Titular/es:

**JAZZ PHARMACEUTICALS RESEARCH UK LIMITED (100.00%)  
Building 730 Kent Science Park  
Sittingbourne Kent ME9 8AG, GB**

72 Inventor/es:

**GUY, GEOFFREY;  
KNAPPERTZ, VOLKER;  
WHALLEY, BENJAMIN;  
WOOLLEY-ROBERTS, MARIE;  
BRODIE, JAMES;  
LACH-FALCONE, KATARZYNA;  
SUTTON, ALAN;  
GRAY, ROYSTON y  
RANA, ROHINI RAJYALAXMI**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 3 000 752 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Preparaciones de canabidiol y sus usos

Campo de la invención

5 El canabidiol (CBD) es un canabinoide designado químicamente como 2-[(1R,6R)-3-metil-6-(1-metiletetil)-2-ciclohexen-1-il]-5-pentil-1,3-bencenodiol. Su fórmula empírica es  $C_{21}H_{30}O_2$  y su peso molecular es 314.46. El CBD es un canabinoide que se encuentra de forma natural en la planta de *Cannabis sativa* L. El CBD es un sólido cristalino de color blanco a amarillo pálido que es insoluble en agua y soluble en disolventes orgánicos.

10 La presente invención abarca el sorprendente reconocimiento de que ciertas preparaciones de CBD que se preparan a partir de un origen botánico son más eficaces en el tratamiento de enfermedades o trastornos que las preparaciones de CBD que son sintéticas o purificadas, en la medida en que no estén presentes otras impurezas en forma de otros cannabinoides.

Se han preparado composiciones anteriores de CBD de tal manera que no quedan componentes psicoactivos, por ejemplo, tetrahidrocanabinol (THC), en la preparación final de CBD. Sorprendentemente, la ausencia de estas impurezas menores reduce la eficacia del tratamiento con CBD.

15 Tales preparaciones de CBD se caracterizan por componentes químicos y/o propiedades funcionales que las distinguen de las composiciones anteriores de CBD. Uno o más componentes de las preparaciones descritas en el presente documento proporcionan un efecto sinérgico inesperado cuando se utilizan en combinación.

Antecedentes de la invención

20 Los cannabinoides son compuestos naturales y sintéticos relacionados estructural o farmacológicamente con los constituyentes de la planta de cannabis o con los agonistas endógenos (endocannabinoides) de los receptores CB1 o CB2 cannabinoides. La única forma en la naturaleza en que se producen estos compuestos es mediante la planta de cannabis. El cannabis es un género de plantas con flores de la familia *Cannabaceae*, que comprende las especies *Cannabis sativa*, *Cannabis indica*, y *Cannabis ruderalis* (a veces considerado como parte de *Cannabis sativa*).

25 Las plantas de cannabis comprenden una mezcla muy compleja de compuestos. Se han identificado al menos 568 moléculas únicas. Entre estos compuestos se encuentran cannabinoides, terpenoides, azúcares, ácidos grasos, flavonoides, otros hidrocarburos, compuestos nitrogenados y aminoácidos.

30 Los cannabinoides ejercen sus efectos fisiológicos a través de una variedad de receptores, incluyendo, pero sin limitarse a, los receptores adrenérgicos, los receptores cannabinoides (CB1 y CB2), GPR55, GPR3 o GPR5. Los principales cannabinoides presentes en las plantas de cannabis son los ácidos cannabinoides ácido tetrahidrocanabinólico (THCA) y ácido canabidiólico (CBDA) con pequeñas cantidades de sus respectivos cannabinoides neutros (descarboxilados). Además, el cannabis puede contener niveles más bajos de otros cannabinoides menores.

35 Los extractos crudos de plantas de cannabis que contienen CBD han sido utilizados por pacientes que padecen enfermedades y trastornos. Sin embargo, estos productos crudos no son adecuados para su uso en formulaciones farmacéuticas. Quienes buscan preparar preparaciones de CBD más consistentes para su uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos, han realizado un esfuerzo concertado para preparar CBD sintéticamente o intentar eliminar todos los compuestos distintos del CBD, particularmente los compuestos psicoactivos como el THC, de los cannabinoides derivados de las plantas.

40 La presente invención abarca el sorprendente descubrimiento de que preparaciones particulares que comprenden CBD tienen una eficacia terapéutica mejorada, en comparación con preparaciones sintéticas de CBD que no comprenden impurezas cannabinoides menores y extractos crudos que tienen niveles más altos de las impurezas cannabinoides menores.

45 Como se declaró, los cannabinoides son una clase de compuestos que pueden derivarse naturalmente de la planta de cannabis o producirse sintéticamente mediante síntesis química.

50 Se han identificado más de 100 cannabinoides diferentes producidos por el cannabis, como se describe en Handbook of Cannabis, Roger Pertwee, Capítulo 1, páginas 3 a 15. Estos cannabinoides pueden ser divididos en diferentes grupos de la siguiente manera: fitocannabinoides, endocannabinoides y cannabinoides sintéticos (que pueden ser cannabinoides novedosos o versiones producidas sintéticamente de fitocannabinoides o endocannabinoides).

Los fitocannabinoides son cannabinoides que tienen su origen en la naturaleza y se pueden encontrar en la planta de cannabis. Los fitocannabinoides se pueden aislar de las plantas para producir un extracto altamente purificado. Los fitocannabinoides pueden obtenerse en forma neutra (forma descarboxilada) o en forma de ácido carboxílico, dependiendo del método utilizado para extraer los cannabinoides del material de la planta. Por

ejemplo, se sabe que el calentamiento de la forma de ácido carboxílico causará que la mayor parte de la forma de ácido carboxílico se descarboxile a la forma neutra. Los fitocannabinoides sólo pueden producirse a partir de plantas, aunque se pueden producir versiones de fitocannabinoides sintéticamente mediante síntesis química.

5 Los endocannabinoides son neurotransmisores retrógrados endógenos basados en lípidos que se unen a los receptores cannabinoides y a las proteínas receptoras de cannabinoides que se expresan en todo el sistema nervioso central de los mamíferos (incluyendo el cerebro) y el sistema nervioso periférico. El sistema endocanabinoide está involucrado en la regulación de una variedad de procesos fisiológicos y cognitivos, incluyendo la fertilidad, el embarazo, durante el desarrollo pre- y postnatal, el apetito, la sensación de dolor, el estado de ánimo y la memoria, y en la mediación de los efectos farmacológicos del cannabis.

10 Los cannabinoides sintéticos son compuestos que tienen una estructura similar a la de los cannabinoides y se fabrican usando medios químicos en lugar de mediante la planta.

A continuación se describen algunos cannabinoides con más detalle.

15 El canabidiol (CBD) es un componente canabinoide importante de las especies de Cannabis, como la planta de cáñamo (*Cannabis sativa*). A diferencia de otros cannabinoides, como el THC, el canabidiol no se une a CB1 o CB2, o su unión a los receptores es insignificante en términos de la inducción de un efecto farmacológico. Por tanto, el canabidiol no provoca los efectos sobre el sistema nervioso central o periférico mediados por los receptores CB1 o CB2. El CBD tiene poca o ninguna actividad psicotrópica (canabimimética) y su estructura molecular y propiedades son sustancialmente diferentes a las de otros cannabinoides.

20 La administración de canabidiol ha sido objeto de investigación en un intento de proporcionar un tratamiento alternativo para diversas enfermedades y trastornos que pueden responder a dicho tratamiento.

25 El tetrahidrocanabinol (THC) es el principal componente psicoactivo del cannabis. El THC es un agonista parcial de los receptores CB1 y CB2. El THC sintético o dronabinol está aprobado para el tratamiento de la pérdida de apetito en pacientes con SIDA y las náuseas y vómitos causados por la quimioterapia contra el cáncer. Los efectos secundarios canabimiméticos causados por el THC incluyen sensación de euforia, náuseas, vómitos, ansiedad, depresión y debilidad.

De los más de 100 cannabinoides naturales identificados en Cannabis sativa, siete han sido clasificados como compuestos de tipo CBD, estos cannabinoides tienen la misma configuración absoluta que el CBD. Estos son: CBD, ácido canabidiólico (CBDA), canabidivarina (CBDV), ácido canabidivarínico (CBDVA), canabidiol-C1 (CBD-C1), canabidiol-C4 (CBD-C4) y canabidiol monometil éter (CBDM).

30 El ácido canabidiólico (CBDA) es la forma principal en que existe el CBD en la planta de cannabis. Se convierte en CBD después de la descarboxilación.

El canabidiol-C1 (CBD-C1), también conocido como canabidiolcol, es un homólogo del CBD, con la cadena lateral acortada por cuatro puentes de metileno. El CBD-C1 ocurre de forma natural en las plantas que producen CBD en cantidades menores.

35 La canabidivarina (CBDV) es un homólogo del CBD, con la cadena lateral acortada por dos puentes de metileno. El CBDV es un canabinoide no psicoactivo y se ha demostrado que tiene actividad anticonvulsiva en un modelo de ratón con epilepsia.

40 El canabidiol-C4 (CBD-C4), también conocido como nor-canabidiol, es un homólogo del CBD, con la cadena lateral acortada por un puente de metileno. El CBD-C4 se produce de forma natural en las plantas que producen CBD en cantidades menores.

45 El documento GB 2531282 A se dirige al uso de cannabinoides en el tratamiento de la epilepsia. El documento GB 2542155 A está dirigido al uso de cannabinoides en el tratamiento de trastornos mentales. Gallily et al., Pharmacology & Pharmacy, 2015, vol 06(02), páginas 75-85 se titula "Overcoming the bell-shaped dose-response of cannabidiol by using cannabis extract enriched in cannabidiol". Tose et al., International Journal of Mass Spectrometry, 2017, 418, 112-121 se titula "Isomeric separation of cannabinoids by UPLC combined with ionic mobility mass spectrometry (TWIM-MS), parte I".

50 La presente invención demuestra una mayor eficacia de una preparación de CBD purificado de origen botánico que comprende cantidades menores de los cannabinoides CBD-C1, CBDV, CBD-C4 y THC en comparación con un CBD sintético que no comprende cantidades menores de cannabinoides. Estos datos son particularmente sorprendentes, sobre todo teniendo en cuenta que la concentración de CBD en la preparación de CBD purificado de origen botánico y la preparación sintética eran las mismas. La invención divulga además la diferencia en las propiedades fisicoquímicas de un CBD purificado de origen botánico y un CBD sintético.

Breve resumen de la divulgación

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona una preparación de canabidiol (CBD) caracterizada porque comprende mayor que o igual a 98% (p/p) de CBD y menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides, en donde el menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides comprende los cannabinoides tetrahidrocanabinol (THC); canabidiol-C1 (CBD-C1); canabidivarina (CBDV); y canabidiol-C4 (CBD-C4), y en donde el THC está presente como una mezcla de trans-THC y cis-THC, y en donde la preparación de CBD comprende al menos aproximadamente 0.1% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.

De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una preparación de canabidiol (CBD) caracterizada porque comprende mayor que o igual a 98% (p/p) de CBD y menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides, en donde el menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides comprende los cannabinoides tetrahidrocanabinol (THC); canabidiol-C1 (CBD-C1); canabidivarina (CBDV); y canabidiol-C4 (CBD-C4), y en donde el THC está presente como una mezcla de trans-THC y cis-THC, y en donde la preparación de CBD comprende al menos aproximadamente 0.1% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación, para uso como medicamento.

De acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona una preparación de canabidiol (CBD) caracterizada porque comprende mayor que o igual a 98% (p/p) de CBD y menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides, en donde el menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides comprende los cannabinoides tetrahidrocanabinol (THC); canabidiol-C1 (CBD-C1); canabidivarina (CBDV); y canabidiol-C4 (CBD-C4), y en donde el THC está presente como una mezcla de trans-THC y cis-THC, y en donde la preparación de CBD comprende al menos aproximadamente 0.1% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación, para su uso en el tratamiento de enfermedades y afecciones del neurodesarrollo.

De acuerdo con un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona una preparación de canabidiol (CBD) caracterizada porque comprende mayor que o igual a 98% (p/p) de CBD y menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides, en donde el menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides comprende los cannabinoides tetrahidrocanabinol (THC); canabidiol-C1 (CBD-C1); canabidivarina (CBDV); y canabidiol-C4 (CBD-C4), y en donde el THC está presente como una mezcla de trans-THC y cis-THC, y en donde la preparación de CBD comprende al menos aproximadamente 0.1% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación, para su uso en el tratamiento de la epilepsia.

De acuerdo con un quinto aspecto de la presente invención, se proporciona una preparación de canabidiol (CBD) caracterizada porque comprende mayor que o igual a 98% (p/p) de CBD y menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides, en donde el menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides comprende los cannabinoides tetrahidrocanabinol (THC); canabidiol-C1 (CBD-C1); canabidivarina (CBDV); y canabidiol-C4 (CBD-C4), y en donde el THC está presente como una mezcla de trans-THC y cis-THC, y en donde la preparación de CBD comprende al menos aproximadamente 0.1% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación, para su uso en el tratamiento de la esquizofrenia.

Preferiblemente, la preparación comprende no más del 1.5% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.

En una realización de la invención, la mezcla de trans-THC y cis-THC está presente en una relación de aproximadamente 3.6:1 de trans-THC:cis-THC. En una realización adicional de la invención, la mezcla de trans-THC y cis-THC está presente en una relación de aproximadamente 0.8:1 de trans-THC:cis-THC.

Preferiblemente, la preparación comprende de aproximadamente 0.1% a aproximadamente 0.15% (p/p) de CBD-C1 sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.

Preferiblemente, la preparación comprende de aproximadamente 0.2% a aproximadamente 0.8% (p/p) de CBDV sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.

Preferiblemente, la preparación comprende de aproximadamente 0.3% a aproximadamente 0.4% (p/p) de CBD-C4 sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.

En una realización, al menos una porción de al menos uno de los cannabinoides presentes en la preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis.

Preferiblemente, al menos una porción del CBD presente en la preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis.

Preferiblemente, al menos una porción del THC presente en la preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis.

Preferiblemente, al menos una porción del CBD-C1 presente en la preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis.

Preferiblemente, al menos una porción del CBDV presente en la preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis.

Preferiblemente, al menos una porción del CBD-C4 presente en la preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis.

5 En una realización adicional de la invención, sustancialmente todos o al menos uno de los cannabinoides presentes en la preparación de CBD se aíslan del material de la planta de cannabis.

Preferiblemente, sustancialmente todo el CBD presente en la preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis.

10 Preferiblemente, sustancialmente todo el THC presente en la preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis.

Preferiblemente, sustancialmente todo el CBD-C1 presente en la preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis.

Preferiblemente, todo el CBDV presente en la preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis.

15 Preferiblemente, todo el CBD-C4 presente en la preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis.

En una realización adicional de la invención, sustancialmente todos los cannabinoides presentes en la preparación de CBD se aíslan del material de la planta de cannabis.

20 Preferiblemente, el material de la planta de cannabis proviene de una planta de *Cannabis sativa*, *Cannabis indica*, o *Cannabis ruderalis*.

Preferiblemente, la planta de cannabis es un quimiotipo de cannabis con alto contenido de CBD.

En una realización adicional de la invención, al menos una porción de al menos uno de los cannabinoides presentes en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.

Preferiblemente, al menos una porción del CBD presente en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.

25 Preferiblemente, al menos una porción del THC presente en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.

Preferiblemente, al menos una porción del CBD-C1 presente en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.

Preferiblemente, al menos una porción del CBDV presente en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.

30 Preferiblemente, al menos una porción del CBD-C4 presente en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.

En una realización adicional de la invención, sustancialmente todos o al menos uno de los cannabinoides presentes en la preparación de CBD se preparan sintéticamente.

Preferiblemente, sustancialmente todo el CBD presente en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.

35 Preferiblemente, sustancialmente todo el THC presente en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.

Preferiblemente, sustancialmente todo el CBD-C1 presente en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.

Preferiblemente, sustancialmente todo el CBDV presente en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.

40 Preferiblemente, sustancialmente todo el CBD-C4 presente en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.

Preferiblemente, sustancialmente todos los cannabinoides presentes en la preparación de CBD se preparan sintéticamente.

45 En una realización adicional de la invención, la enfermedad o trastorno neurodegenerativo es enfermedad de Alzheimer; enfermedad de Parkinson; temblor esencial; esclerosis lateral amiotrófica (ALS); enfermedad de Huntington; ataxia de Friedreich; esclerosis múltiple; demencia frontotemporal; enfermedad priónica; demencia con cuerpos de Lewy; parálisis supranuclear progresiva; demencia vascular; hidrocefalia de presión normal;

5 lesión medular traumática; demencia por VIH; neurotoxicidad inducida por alcohol; síndrome de Down; trastornos del movimiento del sistema nervioso central y/o periférico; enfermedades de la neurona motora (MND); atrofia muscular espinal; o cualquier otra enfermedad neurológica o neurodegenerativa psiquiátrica relacionada; daño cerebral; lesión cerebral; disfunción cerebral; disgrafía; disartria; apraxia; agnosia; amnesia;

10 mareos; vértigo; coma; accidente cerebrovascular; daño medular; lesión medular; trastornos medulares; neuropatía central; neuropatía periférica; trastorno del nervio craneal; neuralgia del trigémino; tumores del sistema nervioso; infecciones del cerebro o la médula espinal; encefalitis; meningitis; enfermedad priónica; síndrome de dolor regional complejo; un trastorno del sistema nervioso autónomo; neuropatía autónoma; disautonomía; síndrome de taquicardia ortostática postural (POTS); síncope neurocardiogénico (NCS); atrofia multisistémica (MSA); neuropatía hereditaria sensitiva y autónoma (HSAN); síndrome de Holmes-Adie (HAS); un trastorno del sueño; narcolepsia; dolor; migraña; cefalea en racimos; cefalea por tensión; dolor de espalda; dolor lumbar; dolor de cuello; dolor neuropático; dolor por cáncer; alodinia; dolor artrítico; dolor inflamatorio; un trastorno neuropsiquiátrico; trastorno por déficit de atención con hiperactividad; autismo; síndrome de Tourette; trastorno obsesivo compulsivo; un trastorno del espectro autista; síndrome de Rett; síndrome del cromosoma X frágil; síndrome de Angelman; trastorno hiperquinético; enfermedad mitocondrial; distonía; un cáncer; cáncer de cerebro; glioma; cáncer de mama; cáncer de hígado; cáncer de pulmón; cáncer de páncreas; melanoma; cáncer de ovario; cáncer gástrico; cáncer renal; cáncer de vejiga; adicción; adicción a la nicotina; tabaquismo; adicción al alcohol; adicción a las drogas; trastorno por consumo de cannabis; un trastorno mental; trastorno de estrés postraumático; ansiedad; psicosis temprana; esquizofrenia; un trastorno cognitivo; accidente cerebrovascular; isquemia cardíaca; enfermedad de la arteria coronaria; tromboembolia; infarto de miocardio; enfermedad relacionada con la isquemia; un trastorno gastrointestinal; enfermedad inflamatoria intestinal; enfermedad de Crohn; colitis ulcerosa; náuseas; vómitos; emesis; mareo por movimiento; náuseas inducidas por quimioterapia; náuseas y vómitos inducidos por quimioterapia; inflamación; artritis; artritis reumatoide; osteoartritis; diabetes; presión arterial alta; control deficiente de la insulina; supresión del apetito; anorexia;

15 20 25 encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal (NHIE); una enfermedad degenerativa del músculo esquelético; o distrofia muscular de Duchenne (DMD).

30 En una realización adicional de la invención, la epilepsia es síndrome de Dravet, síndrome de Lennox Gastaut, síndrome de epilepsia relacionada con infección febril (FIRES), síndrome de Doose, síndrome de Sturge Weber, mutación CDKL5; síndrome de Aicardi; polimicrogiria bilateral; Dup15q; SNAP25; epilepsia rolándica benigna; epilepsia mioclónica juvenil; espasmo infantil (síndrome de West); y síndrome de Landau-Kleffner, epilepsia refractaria, espasmos juveniles, síndrome de West, espasmos infantiles, espasmos infantiles refractarios, complejo de esclerosis tuberosa (TSC); trastorno de almacenamiento neurogenético, lipofuscinosis neuronal ceroida (NCL), enfermedad de Batten, anomalía cerebral, atónica, idiopática, convulsión de ausencia, convulsión parcial, convulsión parcial simple o convulsión parcial compleja.

35 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 representa la ruta biosintética de la producción de cannabinoides.

La figura 2 representa las diferentes formas quirales del tetrahidrocanabinol (THC).

La Figura 3 representa un cromatograma UPLC que detalla los niveles traza de canabinoide en una preparación de CBD purificado de origen botánico.

40 La figura 4 representa un espectro de masas de cis-THC aislado de una planta con alto contenido de CBD.

La figura 5 representa trazas de HPLC/DAD que muestran el tiempo de retención de trans-THC (arriba) y cis-THC (abajo).

La figura 6 representa los gráficos de rango de Spearman de trans-THC a cis-THC en material de CBD durante las etapas de procesamiento.

45 La figura 7 representa la determinación de la forma estereoisomérica del cis-THC presente en la preparación de CBD purificado de origen botánico.

La figura 8 representa la comparación por HPLC del CBD purificado de origen botánico y el CBD sintético.

50 La figura 9 representa un espectro de autofluorescencia de CBD purificado de origen botánico y CBD sintético a 100mM representativo del escaneo de excitación desde 230 nm hasta por debajo de las longitudes de onda de emisión fijadas en 400 o 440 nm.

La figura 10 representa un espectro de autofluorescencia de CBD purificado de origen botánico y CBD sintético a 100mM representativo del escaneo de emisión hasta 800 nm por encima de las longitudes de onda de excitación fijadas en 326/370 nm para CBD purificado de origen botánico y 328/334/344 nm para CBD sintético.

La figura 11 representa un espectro de autofluorescencia de CBD purificado de origen botánico y CBD sintético a 100mM representativo del escaneo de excitación desde 230 nm hasta por debajo de las longitudes de onda de emisión fijadas en 400 o 440 nm.

5 La figura 12 representa un espectro de autofluorescencia de CBD purificado de origen botánico y CBD sintético a 100mM representativo del escaneo de emisión hasta 800 nm por encima de las longitudes de onda de excitación fijadas en 326/370 nm para CBD purificado de origen botánico y 326/340 nm para CBD sintético.

La figura 13 representa el Experimento 1 - curva sigmoidal que muestra el logaritmo de dosis de CBD frente a la actividad anticonvulsiva en la prueba MES.

10 La figura 14 representa el experimento 2 - curva sigmoidal que muestra el logaritmo de dosis de CBD frente a la actividad anticonvulsiva en la prueba MES.

La figura 15 representa los tiempos de exploración nuevos versus los familiares en ratas tratadas con CBD purificado de origen botánico.

La figura 16 representa los tiempos de exploración nuevos versus los familiares en ratas tratadas con CBD sintético.

15 La figura 17 representa los tiempos de exploración nuevos versus los familiares en ratas tratadas con CBD purificado de origen botánico suplementado con THC al 10 y 20% (p/p).

La figura 18 representa el índice de discriminación en ratas tratadas con CBD purificado de origen botánico suplementado con THC al 10 y 20% (p/p).

20 La figura 19 representa el número de cruces de líneas en ratas tratadas con CBD purificado de origen botánico suplementado con THC al 10 y 20% (p/p).

#### Definiciones

25 En esta solicitud, a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo, (i) puede entenderse que el término "un" indica "al menos uno"; (ii) el término "o" puede ser entendido como "y/o"; (iii) los términos "que comprende" e "incluyendo" pueden ser entendidos como que abarcan componentes o pasos detallados, ya sea que se presenten por sí solos o junto con uno o más componentes o pasos adicionales; y (iv) los términos "alrededor de" y "aproximadamente" pueden ser entendidos como que permiten una variación estándar como la entenderían aquellos con conocimientos ordinarios en la técnica; y (v) cuando se proporcionan intervalos, se incluyen puntos finales.

30 *Alrededor de o Aproximadamente:* Los términos "alrededor de" o "aproximadamente", cuando se aplican a uno o más valores de interés, se refieren a un valor que es similar a un valor de referencia establecido. En ciertas realizaciones, el término "alrededor de" o "aproximadamente" se refiere a un intervalo de valores que caen dentro del 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, o menos en cualquier dirección (mayor que o menos de) del valor de referencia establecido, a menos que se indique o sea evidente de otro modo a partir del contexto.

35 *Administración:* Como se utiliza en el presente documento, el término "administración" se refiere típicamente a la administración de una composición a un sujeto o sistema. Aquellos de destreza ordinaria en la técnica serán conscientes de diversas vías que, en circunstancias apropiadas, pueden utilizarse para la administración a un sujeto, por ejemplo, un ser humano. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la administración puede ser ocular, oral, parenteral, tópica, etc. En algunas realizaciones particulares, la administración puede ser bronquial (por ejemplo, por instilación bronquial), bucal, dérmica (que puede ser o comprender, por ejemplo, una o más de: 40 tópica en la dermis, intradérmica, interdérmica, transdérmica, etc.), enteral, intraarterial, intradérmica, intragástrica, intramedular, intramuscular, intranasal, intraperitoneal, intratecal, intravenosa, intraventricular, dentro de un órgano específico (por ejemplo, intrahepática), mucosa, nasal, oral, rectal, subcutánea, sublingual, tópica, traqueal (por ejemplo, por instilación intratraqueal), vaginal, vítrea, etc. En algunas realizaciones, la 45 administración puede implicar una dosificación que es intermitente (por ejemplo, una pluralidad de dosis separadas en el tiempo) y/o periódica (por ejemplo, dosis individuales separadas por un periodo de tiempo común). En algunas realizaciones, la administración puede implicar una dosificación continua (por ejemplo, perfusión) durante al menos un período de tiempo seleccionado.

50 *Agente:* En general, el término "agente", como se utiliza en el presente documento, puede emplearse para referirse a un compuesto o entidad de cualquier clase química, incluyendo, por ejemplo, un polipéptido, ácido nucleico, sacárido, lípido, molécula pequeña, metal o combinación o complejo de los mismos. En circunstancias apropiadas, como quedará claro a partir del contexto para aquellos expertos en la técnica, el término puede utilizarse para referirse a una entidad que es o comprende una célula u organismo, o una fracción, extracto o componente del mismo. Alternativa o adicionalmente, como lo aclarará el contexto, el término puede usarse 55 para referirse a un producto natural que se encuentra y/o se obtiene de la naturaleza. En algunos casos, de

nuevo como quedará claro a partir del contexto, el término puede usarse para referirse a una o más entidades creadas por el hombre, es decir, diseñadas, fabricadas y/o producidas mediante la acción de la mano del hombre y/o que no se encuentran en la naturaleza. En algunas realizaciones, un agente puede utilizarse en forma aislada o pura; en algunas realizaciones, un agente puede utilizarse en forma cruda. En algunas realizaciones, los agentes potenciales pueden proporcionarse como colecciones o bibliotecas, por ejemplo, que pueden discriminarse para identificar o caracterizar los agentes activos dentro de ellas. En algunos casos, el término "agente" puede referirse a un compuesto o entidad que es o comprende un polímero; en algunos casos, el término puede referirse a un compuesto o entidad que comprende una o más unidades estructurales poliméricas. En algunas realizaciones, el término "agente" puede referirse a un compuesto o entidad que no es un polímero y/o está sustancialmente libre de cualquier polímero y/o de una o más unidades estructurales poliméricas particulares. En algunas realizaciones, el término puede referirse a un compuesto o entidad que carece o está sustancialmente libre de cualquier unidad estructural polimérica.

*Mejoría:* Como se utiliza en el presente documento, se refiere a la prevención, reducción o paliación de un estado, o mejora del estado de un sujeto. La mejoría incluye, pero no requiere, la recuperación completa o la prevención completa de una enfermedad, trastorno o afección (por ejemplo, lesión por radiación).

*Biológicamente activo:* Como se utiliza en el presente documento, se refiere a un efecto o resultado biológico observable logrado por un agente o entidad de interés. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una interacción de unión específica es una actividad biológica. En algunas realizaciones, la modulación (por ejemplo, inducción, mejora o inhibición) de una ruta o evento biológico es una actividad biológica. En algunas realizaciones, la presencia o extensión de una actividad biológica se evalúa mediante la detección de un producto directo o indirecto producido por una ruta biológica o un evento de interés.

*Cáncer.* Los términos "cáncer", "malignidad", "neoplasia", "tumor" y "carcinoma" se utilizan en el presente documento para referirse a células que exhiben un crecimiento relativamente anormal, descontrolado y/o autónomo, de modo que exhiben un fenotipo de crecimiento aberrante caracterizado por una pérdida significativa del control de la proliferación celular. En algunas realizaciones, un tumor puede ser o comprender células que son precancerosas (por ejemplo, benignas), malignas, premetastásicas, metastásicas y/o no metastásicas. La presente divulgación identifica específicamente ciertos tipos de cáncer para los cuales sus enseñanzas pueden ser particularmente relevantes. En algunas realizaciones, un cáncer relevante puede caracterizarse por un tumor sólido. En algunas realizaciones, un cáncer relevante puede caracterizarse por un tumor hematológico. En general, los ejemplos de diferentes tipos de cánceres conocidos en la técnica incluyen, por ejemplo, cánceres hematopoyéticos que incluyen leucemias, linfomas (de Hodgkin y de no Hodgkin), mielomas y trastornos mieloproliferativos; sarcomas, melanomas, adenomas, carcinomas de tejido sólido, carcinomas de células escamosas de boca, garganta, laringe y pulmón, cáncer de hígado, cánceres genitourinarios tales como cáncer de próstata, cuello uterino, vejiga, útero y endometrio y carcinomas de células renales, cáncer de huesos, cáncer de páncreas, cáncer de piel, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer del sistema endocrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroides, cánceres de cabeza y cuello, cáncer de mama, cánceres gastrointestinales y cánceres del sistema nervioso, lesiones benignas tales como papilomas y similares.

*Portador:* Como se utiliza en el presente documento, se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra una composición. En algunas realizaciones ejemplares, los portadores pueden incluir líquidos estériles, tales como, por ejemplo, agua y aceites, incluyendo aceites de origen petrolífero, animal, vegetal o sintético, tales como, por ejemplo, aceite de maní, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. En algunas realizaciones, los portadores son o incluyen uno o más componentes sólidos.

*Comparable:* Como se utiliza en el presente documento, el término "comparable" se refiere a dos o más agentes, entidades, situaciones, conjuntos de condiciones, etc., que pueden no ser idénticos entre sí, pero que son suficientemente similares para permitir la comparación entre ellos, de modo que un experto en la técnica notará que se pueden sacar conclusiones razonablemente basadas en las diferencias o similitudes observadas. En algunas realizaciones, conjuntos comparables de condiciones, circunstancias, individuos o poblaciones se caracterizan por una pluralidad de rasgos sustancialmente idénticos y uno o un pequeño número de rasgos variados. Aquellos con destreza ordinaria en la técnica comprenderán, en contexto, qué grado de identidad se requiere en cualquier circunstancia dada para que dos o más de dichos agentes, entidades, situaciones, conjuntos de condiciones, etc. se consideren comparables. Por ejemplo, aquellos con destreza ordinaria en la técnica notarán que los conjuntos de circunstancias, individuos o poblaciones son comparables entre sí cuando se caracterizan por una cantidad y un tipo suficientes de rasgos sustancialmente idénticos para justificar una conclusión razonable de que las diferencias en los resultados obtenidos o los fenómenos observados bajo o con diferentes conjuntos de circunstancias, individuos o poblaciones, son causadas por o son indicativas de la variación en esos rasgos que varían.

*Composición:* Los expertos en la técnica notarán que el término "composición" puede utilizarse para referirse a una entidad física discreta que comprende uno o más componentes especificados. En general, a menos que se especifique de otro modo, una composición puede ser de cualquier forma, por ejemplo, gas, gel, líquido, sólido, etc.

*Que comprende:* Una composición o método descrito en el presente documento como "que comprende" uno o más elementos o pasos nombrados es de extremo abierto, lo que significa que los elementos o pasos nombrados son esenciales, pero se pueden agregar otros elementos o pasos dentro del alcance de la composición o el método. Para evitar la prolijidad, también se entiende que cualquier composición o método descrito como "que comprende" (o el cual "comprende") uno o más elementos o pasos nombrados también describe la composición o método correspondiente, más limitado, "que consiste esencialmente en" (o el cual "consiste esencialmente en") los mismos elementos o pasos nombrados, lo que significa que la composición o el método incluye los elementos o pasos esenciales nombrados y también puede incluir elementos o pasos adicionales que no afectan materialmente la(s) característica(s) básica(s) y novedosa(s) de la composición o el método. También se entiende que cualquier composición o método descrito en el presente documento como "que comprende" o "que consiste esencialmente en" uno o más elementos o pasos nombrados, también describe la composición o método correspondiente, más limitado y de extremo cerrado "que consiste en" (o "consiste en") los elementos o pasos nombrados, con exclusión de cualquier otro elemento o paso no nombrado. En cualquier composición o método divulgado en el presente documento, los equivalentes conocidos o divulgados de cualquier elemento o paso esencial nombrado pueden ser sustituidos para ese elemento o paso.

*Determinar:* Muchas de las metodologías descritas en el presente documento incluyen un paso de "determinación". Aquellos de destreza ordinaria en la técnica, al leer la presente especificación, notarán que dicha "determinación" puede utilizar o ser lograda mediante el uso de cualquiera de una variedad de técnicas disponibles para los expertos en la técnica, incluyendo, por ejemplo, técnicas específicas a las que se hace referencia explícita en el presente documento. En algunas realizaciones, la determinación implica la manipulación de una muestra física. En algunas realizaciones, la determinación implica la consideración y/o manipulación de datos o información, por ejemplo utilizando un ordenador u otra unidad de procesamiento adaptada para realizar un análisis relevante. En algunas realizaciones, la determinación implica recibir información y/o materiales relevantes de una fuente. En algunas realizaciones, la determinación implica comparar uno o más rasgos de una muestra o entidad con una referencia comparable.

*Forma de dosificación o forma de dosificación unitaria:* Los expertos en la técnica notarán que el término "forma de dosificación" puede usarse para referirse a una unidad físicamente discreta de un agente activo (por ejemplo, un agente terapéutico o de diagnóstico) para administración a un sujeto. Típicamente, cada una de estas unidades contiene una cantidad predeterminada de agente activo. En algunas realizaciones, dicha cantidad es una cantidad de dosificación unitaria (o una fracción entera de la misma) apropiada para la administración de acuerdo con un régimen de dosificación, del que se ha determinado que se correlaciona con un resultado deseado o beneficioso cuando se administra a una población relevante (es decir, con un régimen de dosificación terapéutico). Aquellos con destreza ordinaria en la técnica notarán que la cantidad total de una composición o agente terapéutico administrado a un sujeto en particular está determinada por uno o más médicos tratantes y puede implicar la administración de múltiples formas de dosificación.

*Régimen de dosificación:* Los expertos en la técnica notarán que el término "régimen de dosificación" puede usarse para referirse a un conjunto de dosis unitarias (típicamente más de una) que se administran individualmente a un sujeto, típicamente separadas por períodos de tiempo. En algunas realizaciones, un agente terapéutico determinado tiene un régimen de dosificación recomendado, que puede implicar una o más dosis. En algunas realizaciones, un régimen de dosificación comprende una pluralidad de dosis, cada una de las cuales está separada en el tiempo de otras dosis. En algunas realizaciones, las dosis individuales están separadas entre sí por un período de tiempo de la misma duración; en algunas realizaciones, un régimen de dosificación comprende una pluralidad de dosis y al menos dos períodos de tiempo diferentes que separan las dosis individuales. En algunas realizaciones, todas las dosis dentro de un régimen de dosificación son de la misma cantidad de dosis unitaria. En algunas realizaciones, las diferentes dosis dentro de un régimen de dosificación son de diferentes cantidades. En algunas realizaciones, un régimen de dosificación comprende una primera dosis en una primera cantidad de dosis, seguida de una o más dosis adicionales en una segunda cantidad de dosis diferente de la primera cantidad de dosis. En algunas realizaciones, un régimen de dosificación comprende una primera dosis en una primera cantidad de dosis, seguida de una o más dosis adicionales en una segunda cantidad de dosis igual a la primera cantidad de dosis. En algunas realizaciones, un régimen de dosificación se correlaciona con un resultado deseado o beneficioso, cuando se administra en una población relevante (es decir, es un régimen de dosificación terapéutico).

*Excipiente:* como se utiliza en el presente documento, se refiere a un agente no terapéutico que puede incluirse en una composición farmacéutica, por ejemplo para proporcionar o contribuir a una consistencia deseada o un efecto estabilizador. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen, por ejemplo, almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares.

*Mejorar, aumentar, inhibir o reducir:* Como se utilizan en el presente documento, estos términos, o términos comparativos gramaticalmente comparables, indican valores que son relativos a una medición de referencia comparable. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un valor evaluado logrado con un agente de interés puede ser "mejorado" en relación con el obtenido con un agente de referencia comparable. De manera alternativa o

adicional, en algunas realizaciones, un valor evaluado logrado en un sujeto o sistema de interés puede "mejorarse" en relación con el obtenido en el mismo sujeto o sistema en diferentes condiciones (por ejemplo, antes o después de un evento como la administración de un agente de interés), o en un sujeto diferente, comparable (por ejemplo, en un sujeto o sistema comparable que difiere del sujeto o sistema de interés en presencia de uno o más indicadores de una enfermedad, trastorno o afección particular de interés, o en exposición previa a una condición o agente, etc.). En algunas realizaciones, los términos comparativos se refieren a diferencias estadísticamente relevantes (por ejemplo, que son de una prevalencia y/o magnitud suficiente para lograr relevancia estadística). Aquellos de destreza ordinaria en la técnica serán conscientes o podrán determinar fácilmente, en un contexto dado, un grado y/o prevalencia de diferencia que se requiere o es suficiente para lograr dicha significancia estadística.

*In vitro*: El término "in vitro" como se utiliza en el presente documento se refiere a eventos que ocurren en un ambiente artificial, por ejemplo, en un tubo de ensayo o recipiente de reacción, en un cultivo celular, etc., en lugar de dentro de un organismo multicelular.

*In vivo*: Como se utiliza en el presente documento se refiere a eventos que ocurren dentro de un organismo multicelular, como un ser humano y un animal no humano. En el contexto de los sistemas basados en células, el término puede usarse para referirse a eventos que ocurren dentro de una célula viva (a diferencia de, por ejemplo, sistemas *in vitro*).

*Aislado*: Como se utiliza en el presente documento, se refiere a una sustancia y/o entidad que ha sido (1) separada de al menos algunos de los componentes con los que se asoció cuando se produjo inicialmente (ya sea en la naturaleza y/o en un entorno experimental), y/o (2) diseñada, producida, preparada y/o fabricada por la mano del hombre. En algunas realizaciones, los agentes aislados son aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o más de aproximadamente 99% puros. Como se utiliza en el presente documento, una sustancia es "pura" si está sustancialmente libre de otros componentes.

*Isómero*: Como se sabe en la técnica, muchas entidades químicas (en particular muchas moléculas orgánicas y/o muchas moléculas pequeñas) pueden existir en una variedad de formas isoméricas estructurales (por ejemplo, geométricas/conformacionales) y/u ópticas. Por ejemplo, cualquier centro quiral puede existir en configuraciones R y S; pueden existir enlaces dobles en isómeros conformacionales Z y E, ciertos elementos estructurales pueden adoptar dos o más formas tautoméricas, etc. En algunas realizaciones, como será evidente para los expertos en la técnica a partir del contexto, la representación de o referencia a una estructura de compuesto particular en el presente documento puede representar todos los isómeros estructurales y/u ópticos de la misma. En algunas realizaciones, como será claro para los expertos en la técnica a partir del contexto, la representación o referencia a una estructura de compuesto particular en el presente documento pretende abarcar solo la forma isomérica representada o referenciada. En algunas realizaciones, las composiciones que incluyen una entidad química que puede existir en una variedad de formas isoméricas incluyen una pluralidad de dichas formas; en algunas realizaciones, dichas composiciones incluyen solo una única forma. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las composiciones que incluyen una entidad química que puede existir como una variedad de isómeros ópticos (por ejemplo, estereoisómeros, diastereómeros, etc.) incluyen una población racémica de dichos isómeros ópticos; en algunas realizaciones, dichas composiciones incluyen solo un único isómero óptico y/o incluyen una pluralidad de isómeros ópticos que juntos retienen la actividad óptica. Cuando existen dos o más isómeros dentro de una composición, pueden existir como una mezcla con diversas relaciones.

*Mezcla*: La frase "mezcla" describe una combinación de dos o más compuestos o agentes diferentes que se encuentran dentro de la misma composición.

*Unidad estructural*: Los expertos en la técnica notarán que una "unidad estructural" es un grupo o entidad química definida con una estructura y/o actividad particular, como se describe en el presente documento.

*Oral*: Las frases "administración oral" y "administrado de modo oral" Como se utilizan en el presente documento tienen su significado entendido en la técnica que se refiere a la administración por la boca, de un compuesto o composición.

*Parenteral*: Las frases "administración parenteral" y "administrado de modo parenteral" como se utilizan en el presente documento tienen su significado entendido en la técnica, haciendo referencia a modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, generalmente por inyección, e incluyen, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbitaria, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal.

*Paciente:* Como se utiliza en el presente documento, el término "paciente" se refiere a cualquier organismo al que se administra o puede administrarse una composición proporcionada, por ejemplo, con fines experimentales, de diagnóstico, profilácticos, cosméticos y/o terapéuticos. Los pacientes típicos incluyen animales (por ejemplo, mamíferos como ratones, ratas, conejos, primates no humanos y/o humanos). En algunas realizaciones, un paciente es un ser humano. En algunas realizaciones, un paciente padece o es susceptible a uno o más trastornos o afecciones. En algunas realizaciones, un paciente presenta uno o más síntomas de un trastorno o afección. En algunas realizaciones, a un paciente se le ha diagnosticado uno o más trastornos o afecciones. En algunas realizaciones, el trastorno o afección es o incluye cáncer, o la presencia de uno o más tumores. En algunas realizaciones, el paciente está recibiendo o ha recibido determinada terapia para diagnosticar y/o tratar una enfermedad, trastorno o afección.

*Composición farmacéutica:* Como se utiliza en el presente documento, el término "composición farmacéutica" se refiere a un agente activo, formulado junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, el agente activo está presente en una cantidad de dosis unitaria apropiada para su administración en un régimen terapéutico que muestra una probabilidad estadísticamente significativa de lograr un efecto terapéutico predeterminado, cuando se administra a una población relevante. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas pueden formularse especialmente para su administración en forma sólida o líquida, incluyendo aquellas adaptadas para lo siguiente: administración oral, por ejemplo, pociones (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, por ejemplo, aquellos destinados a la absorción bucal, sublingual y sistémica, bolos, polvos, gránulos, pastas para aplicación en la lengua; administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril, o una formulación de liberación sostenida; aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, ungüento o un parche o aerosol de liberación controlada aplicado a la piel, los pulmones o la cavidad oral; de modo intravaginal o intrarectal, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma; de modo sublingual; de modo ocular; de modo transdérmico; o de modo nasal, pulmonar y a otras superficies mucosas.

*Farmacéuticamente aceptable:* Como se utiliza en el presente documento, la frase "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del criterio médico sensato, son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

*Portador farmacéuticamente aceptable:* Como se utiliza en el presente documento, el término "portador farmacéuticamente aceptable" significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un relleno, diluyente, excipiente líquido o sólido o material encapsulante de disolvente, involucrado en el porte o transporte del compuesto en cuestión desde un órgano o porción del cuerpo a otro órgano o porción del cuerpo. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de maní, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes amortiguadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones con pH amortiguado; poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

*Predeterminado:* Por predeterminado se entiende algo seleccionado deliberadamente, por ejemplo, en contraposición a algo que ocurre o se logra aleatoriamente.

*Previene o prevención:* Como se utiliza en el presente documento cuando se usa en conexión con la ocurrencia de una enfermedad, trastorno y/o afección, se refiere a reducir el riesgo de desarrollar la enfermedad, trastorno y/o afección y/o a retrasar la aparición de una o más características o síntomas de la enfermedad, trastorno o afección. La prevención puede considerarse completa cuando la aparición de una enfermedad, trastorno o afección se ha retrasado durante un período de tiempo predefinido.

*Predominantemente presente:* El término "predominantemente presente", como se utiliza en el presente documento, se refiere a la cantidad de una entidad (por ejemplo, un canabinoide específico o un isómero del mismo) en una preparación o composición. Por ejemplo, un canabinoide puede estar presente de forma predominante si es al menos aproximadamente 50%, aproximadamente 55%, aproximadamente 60%, aproximadamente 65%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100% del canabinoide total en la preparación o composición.

*Prevención:* El término "prevención", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un retraso en la aparición y/o una reducción en la frecuencia y/o gravedad de uno o más síntomas de una enfermedad, trastorno o afección particular. En algunas realizaciones, la prevención se evalúa sobre una base poblacional, de modo que se considera que un agente "previene" una enfermedad, trastorno o afección particular si se observa una disminución estadísticamente significativa en el desarrollo, la frecuencia y/o la intensidad de uno o más síntomas de la enfermedad, trastorno o afección en una población susceptible a la enfermedad, trastorno o afección. La prevención puede considerarse completa cuando la aparición de una enfermedad, trastorno o afección se ha retrasado durante un período de tiempo predefinido.

*Puro:* Como se utiliza en el presente documento, un agente o entidad es "puro" si está sustancialmente libre de otros componentes. Por ejemplo, una preparación que contiene más de aproximadamente el 90% de un agente o entidad en particular se considera típicamente una preparación pura. En algunas realizaciones, un agente o entidad es al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% puro.

*Referencia:* Como se utiliza en el presente documento, describe un estándar o control respecto al cual se realiza una comparación. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un agente, animal, individuo, población, muestra, secuencia o valor de interés se compara con un agente, animal, individuo, población, muestra, secuencia o valor de referencia o control. En algunas realizaciones, una composición de referencia puede comprender uno o más cannabinoides sintéticos. En algunas realizaciones, una composición de referencia puede contener diferentes tipos de cannabinoides, diferentes formas isoméricas de cannabinoides, diferente distribución de cannabinoides, diferentes cantidades de cannabinoides, etc. en comparación con una composición de prueba. En algunas realizaciones, una referencia o control se prueba y/o determina sustancialmente de manera simultánea con la prueba o determinación de interés. En algunas realizaciones, una referencia o control es una referencia o control histórico, opcionalmente incorporado en un medio tangible. Típicamente, como lo entenderían los expertos en la técnica, una referencia o control se determina o caracteriza en condiciones o circunstancias comparables a las que se están evaluando. Los expertos en la técnica notarán cuándo existen suficientes similitudes para justificar la confianza en y/o comparación con una posible referencia o control particular.

*Respuesta:* Como se utiliza en el presente documento, una respuesta al tratamiento puede referirse a cualquier alteración beneficiosa en la condición de un sujeto, que ocurre como resultado del tratamiento o se correlaciona con él. Tal alteración puede incluir la estabilización de la condición (por ejemplo, prevención del deterioro que habría tenido lugar en ausencia del tratamiento), la mejoría de los síntomas de la afección y/o la mejora en las perspectivas de curación de la afección, etc. La respuesta puede medirse de acuerdo con una amplia variedad de criterios, incluyendo criterios clínicos y criterios objetivos. Las técnicas para evaluar la respuesta incluyen, pero sin limitarse a, examen clínico, tomografía por emisión de positrones, escaneo CT de rayos X del pecho, MRI, ultrasonido, endoscopia, laparoscopia, presencia o nivel de marcadores tumorales en una muestra obtenida de un sujeto, citología y/o histología. Los criterios de respuesta exactos se pueden seleccionar de cualquier manera apropiada, siempre que al comparar grupos de células o sujetos, los grupos que se van a comparar se evalúen basándose en criterios iguales o comparables para determinar la tasa de respuesta. Una persona de destreza ordinaria en la técnica será capaz seleccionar criterios apropiados.

*Forma sólida:* Como se sabe en la técnica, muchas entidades químicas (en particular muchas moléculas orgánicas y/o muchas moléculas pequeñas) pueden adoptar una variedad de formas sólidas diferentes tales como, por ejemplo, formas amorfas y/o formas cristalinas (por ejemplo, polimorfos, hidratos, solvatos, etc.). En algunas realizaciones, dichas entidades pueden utilizarse como una única forma de este tipo (por ejemplo, como una preparación pura de un único polimorfo). En algunas realizaciones, dichas entidades pueden utilizarse como una mezcla de dichas formas.

*Sujeto:* Como se utiliza en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un organismo, típicamente un mamífero (por ejemplo, un ser humano, que en algunas realizaciones incluye formas humanas prenatales). En algunas realizaciones, un sujeto se refiere a cualquier organismo (por ejemplo, mamíferos como ratones, ratas, conejos, primates no humanos y humanos; insectos; gusanos; etc.) y plantas a los que se administra un compuesto o composición proporcionados de acuerdo con la presente divulgación, por ejemplo, para fines experimentales, de diagnóstico, profilácticos y/o terapéuticos. En algunas realizaciones, un sujeto padece una enfermedad, trastorno o afección relevante. En algunas realizaciones, un sujeto es susceptible a una enfermedad, trastorno o afección. En algunas realizaciones, un sujeto muestra uno o más síntomas o características de una enfermedad, trastorno o afección. En algunas realizaciones, un sujeto no muestra ningún síntoma o característica de una enfermedad, trastorno o afección. En algunas realizaciones, un sujeto es alguien con una o más rasgos característicos de susceptibilidad o riesgo de una enfermedad, trastorno o afección. En algunas realizaciones, un sujeto es un paciente. En algunas realizaciones, un sujeto es un individuo a quien se le administra y/o se le ha administrado un diagnóstico y/o terapia.

*Sustancialmente:* Como se utiliza en el presente documento, el término "sustancialmente" se refiere a la condición cualitativa de exhibir una extensión o grado total o casi total de una característica o propiedad de interés. Una persona con destreza ordinaria en las técnicas biológicas comprenderá que los fenómenos biológicos y químicos rara vez, o nunca, llegan a su finalización y/o proceden a su completitud o logran o evitan

un resultado absoluto. Por lo tanto, el término "sustancialmente" se utiliza en el presente documento para captar la posible falta de completitud inherente a muchos fenómenos biológicos y químicos.

*Que sufre de:* A una persona que "sufre de" una enfermedad, trastorno y/o afección se le ha diagnosticado y/o presenta uno o más síntomas de una enfermedad, trastorno y/o afección.

5 *Susceptible a:* Un individuo que es "susceptible a" una enfermedad, trastorno y/o afección es aquel que tiene un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad, trastorno y/o afección que un miembro del público en general. En algunas realizaciones, es posible que a un individuo que es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección no se le haya diagnosticado la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, un individuo que es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección puede presentar síntomas de la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, un individuo que es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección desarrollará la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, un individuo que es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección no desarrollará la enfermedad, trastorno y/o afección.

15 *Los síntomas se reducen:* de acuerdo con la presente invención, "los síntomas se reducen" cuando uno o más síntomas de una enfermedad, trastorno o afección particular se reducen en magnitud (por ejemplo, intensidad, gravedad, etc.) y/o frecuencia. Para mayor claridad, un retraso en la aparición de un síntoma particular se considera una forma de reducir la frecuencia de ese síntoma.

20 *Sistémico:* Las frases "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente", como se utilizan en el presente documento, tienen su significado entendido en la técnica que se refiere a la administración de un compuesto o composición de manera tal que ingresa al sistema del receptor.

25 *Agente terapéutico:* Como se utiliza en el presente documento, la frase "agente terapéutico" en general se refiere a cualquier agente que provoca un efecto farmacológico deseado cuando se administra a un organismo. En algunas realizaciones, un agente es considerado un agente terapéutico si demuestra un efecto estadísticamente significativo en una población apropiada. En algunas realizaciones, la población adecuada puede ser una población de organismos modelo. En algunas realizaciones, una población apropiada puede definirse mediante diversos criterios, tales como un determinado grupo de edad, género, antecedentes genéticos, condiciones clínicas preexistentes, etc. En algunas realizaciones, un agente terapéutico es una sustancia que puede usarse para aliviar, mejorar, mitigar, inhibir, prevenir, retrasar la aparición, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o rasgos de una enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, un "agente terapéutico" es un agente que ha sido o debe ser aprobado por una agencia gubernamental, antes de que pueda comercializarse para su administración a seres humanos. En algunas realizaciones, un "agente terapéutico" es un agente para el cual se requiere una prescripción médica para su administración a seres humanos.

*Régimen terapéutico:* Un "régimen terapéutico", como se utiliza ese término en el presente documento, se refiere a un régimen de dosificación cuya administración a una población relevante puede estar correlacionada con un resultado terapéutico deseado o beneficioso.

40 *Cantidad terapéuticamente eficaz:* Como se utiliza en el presente documento, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de una sustancia (por ejemplo, un agente terapéutico, ingrediente activo, preparación, composición y/o formulación) que provoca un efecto deseado (por ejemplo, un efecto o respuesta biológica, clínica o farmacológica deseada) cuando se administra como parte de un régimen terapéutico. En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de una sustancia es una cantidad que es suficiente, cuando se administra a un sujeto que padece de o es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección, para tratar, diagnosticar, prevenir, reducir la gravedad de, estabilizar una o más características de, y/o retrasar la aparición de la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, el término se refiere a una cantidad suficiente para producir el efecto en al menos un porcentaje significativo (por ejemplo, al menos aproximadamente 25%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 70%, aproximadamente 80%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95% o más) de una población que padece y/o es susceptible a una enfermedad, trastorno y/o afección. Como notarán aquellos con destreza ordinaria en esta técnica, la cantidad eficaz de una sustancia puede variar dependiendo de factores tales como el punto biológico final deseado, la sustancia que se va a administrar, la célula o tejido objetivo, etc. Por ejemplo, la cantidad eficaz de compuesto en una formulación para tratar una enfermedad, trastorno y/o afección es la cantidad que alivia, mejora, mitiga, inhibe, previene, retrasa la aparición, reduce la gravedad y/o reduce la incidencia de uno o más síntomas o rasgos de la enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz en una dosis única; en algunas realizaciones, se requieren múltiples dosis unitarias para entregar una cantidad terapéuticamente eficaz.

*Tratar:* Como se utiliza en el presente documento, el término "tratar", "tratamiento" o "tratando" se refiere a cualquier método utilizado para aliviar, mejorar, mitigar, inhibir, prevenir, retrasar la aparición de, reducir la gravedad de y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o rasgos de una enfermedad, trastorno y/o afección, de forma parcial o total. En algunas realizaciones, el tratamiento se refiere a la administración de una terapia que alivia, mejora, mitiga, inhibe, retrasa la aparición de, reduce la gravedad de y/o reduce la incidencia de forma parcial o total de uno o más síntomas, rasgos y/o causas de una enfermedad, trastorno y/o afección. El tratamiento puede administrarse a un sujeto que no presente signos de una enfermedad, trastorno y/o afección. En algunas realizaciones, el tratamiento puede administrarse a un sujeto que presenta solo signos tempranos de la enfermedad, trastorno y/o afección, por ejemplo, con el propósito de disminuir el riesgo de desarrollar una patología asociada con la enfermedad, trastorno y/o afección.

*Dosis unitaria:* La expresión "dosis unitaria", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una cantidad administrada como una dosis única y/o en una unidad físicamente discreta de una composición farmacéutica. En muchas realizaciones, una dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada de un agente activo. En algunas realizaciones, una dosis unitaria contiene una dosis única completa del agente. En algunas realizaciones, se administra más de una dosis unitaria para lograr una dosis única total. En algunas realizaciones, se requiere, o se espera que se requiera, la administración de múltiples dosis unitarias para lograr un efecto previsto. Una dosis unitaria puede ser, por ejemplo, un volumen de líquido (por ejemplo, un portador aceptable) que contiene una cantidad predeterminada de uno o más agentes terapéuticos, una cantidad predeterminada de uno o más agentes terapéuticos en forma sólida, una formulación de liberación sostenida o un dispositivo de entrega de fármacos que contiene una cantidad predeterminada de uno o más agentes terapéuticos, etc. Se notará que una dosis unitaria puede estar presente en una formulación que incluye cualquiera de una variedad de componentes, además del o los agente(s) terapéutico(s). Por ejemplo, se pueden incluir portadores aceptables (por ejemplo, portadores farmacéuticamente aceptables), diluyentes, estabilizantes, amortiguadores, conservantes, etc., como se describen a continuación. Los expertos en la técnica notarán que, en muchas realizaciones, una dosificación diaria total adecuada de un agente terapéutico particular puede comprender una porción o una pluralidad de dosis unitarias, y puede ser decidida, por ejemplo, por el médico tratante dentro del alcance de un criterio médico sensato. En algunas realizaciones, el nivel de dosis eficaz específica para cualquier sujeto u organismo en particular puede depender de una variedad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto activo específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del sujeto; el momento de la administración y la tasa de excreción del compuesto activo específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos y/o terapias adicionales utilizados en combinación o coincidentemente con el compuesto o compuestos específico(s) empleado(s), y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

### 35 Descripción detallada

Los cannabinoides son compuestos naturales y sintéticos relacionados estructural o farmacológicamente con los constituyentes de la planta de cannabis o con los agonistas endógenos (endocannabinoides) de los receptores CB1 o CB2 cannabinoides. La única forma en la naturaleza en que se producen estos compuestos es mediante la planta de cannabis. El cannabis es un género de plantas con flores de la familia *Cannabaceae*, que comprende las especies *Cannabis sativa*, *Cannabis indica*, y *Cannabis ruderalis* (a veces considerado como parte de *Cannabis sativa*).

Las plantas de cannabis comprenden una mezcla muy compleja de compuestos. Se han identificado al menos 568 moléculas únicas. Entre estos compuestos se encuentran cannabinoides, terpenoides, azúcares, ácidos grasos, flavonoides, otros hidrocarburos, compuestos nitrogenados y aminoácidos.

Los cannabinoides ejercen sus efectos fisiológicos a través de una variedad de receptores, incluyendo, pero sin limitarse a, los receptores adrenérgicos, los receptores cannabinoides (CB1 y CB2), GPR55, GPR3 o GPR5. Los principales cannabinoides presentes en las plantas de cannabis son los ácidos cannabinoides ácido tetrahidrocanabinólico (THCA) y ácido canabidiólico (CBDA) con pequeñas cantidades de sus respectivos cannabinoides neutros (descarboxilados). Además, el cannabis puede contener niveles más bajos de otros cannabinoides menores. "La composición química, el perfil farmacológico y los efectos fisiológicos completos de estas plantas medicinales y, más importante aún, de los extractos de cannabis, aún quedan por comprender en su totalidad". Lewis, MM y col., ACS Omega, 2, 6091-6103 (2017). La figura 1 representa un esquema ejemplar de las rutas biosintéticas de ciertos fitocannabinoides.

Los extractos crudos de plantas de cannabis que contienen CBD han sido utilizados por pacientes que padecen enfermedades y trastornos. Sin embargo, estos productos crudos no son adecuados para su uso en formulaciones farmacéuticas. Quienes buscan preparar preparaciones de CBD más consistentes para su uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos han realizado un esfuerzo concertado para preparar CBD sintéticamente o intentar eliminar todos los compuestos distintos del CBD, particularmente los compuestos psicoactivos como el THC, de los cannabinoides derivados de las plantas.

La presente invención abarca el sorprendente descubrimiento de que una preparación de CBD purificado de origen botánico, que comprende uno o más cannabinoides adicionales y es adecuada para uso farmacéutico, exhibe una eficacia terapéutica mejorada en comparación con preparaciones de CBD anteriores que difieren de la composición divulgada en el presente documento.

- 5 Estas preparaciones se diferencian por estar purificadas hasta el punto de que no existen otras impurezas o por estar producidas sintéticamente, por lo que no comprenden cannabinoides adicionales que se producirían por la naturaleza, o se diferencian además por ser un extracto de planta no purificado, cuyo extracto comprende algunos o todos los compuestos cannabinoides y no cannabinoides que son coproducidos por la planta y coextraídos en la preparación del extracto. En algunas realizaciones, la preparación de CBD purificado de  
10 origen botánico de la presente invención se puede administrar en una dosis de CBD más baja que una preparación de CBD sintética o completamente pura.

#### Canabinoides

Como se declaró, los cannabinoides son una clase de compuestos que pueden derivarse naturalmente de la planta de cannabis o producirse sintéticamente mediante síntesis química.

- 15 Se han identificado más de 100 cannabinoides diferentes producidos por el cannabis. Estos cannabinoides se pueden dividir en diferentes grupos de la siguiente manera: fitocannabinoides, endocannabinoides y cannabinoides sintéticos (que pueden ser cannabinoides nuevos o versiones producidas sintéticamente de fitocannabinoides o endocannabinoides).

- 20 Los fitocannabinoides son cannabinoides que tienen su origen en la naturaleza y se pueden encontrar en la planta de cannabis. Los fitocannabinoides se pueden aislar de las plantas para producir un extracto altamente purificado. Los fitocannabinoides pueden obtenerse en forma neutra (forma descarboxilada) o en forma de ácido carboxílico, dependiendo del método utilizado para extraer los cannabinoides del material vegetal. Por ejemplo, se sabe que calentar la forma de ácido carboxílico hará que la mayor parte de la forma de ácido carboxílico se descarboxile a la forma neutra. Los fitocannabinoides sólo pueden producirse a partir de plantas, aunque se  
25 pueden producir versiones de fitocannabinoides sintéticamente mediante síntesis química.

- Los endocannabinoides son neurotransmisores retrógrados endógenos basados en lípidos, que se unen a los receptores cannabinoides y a las proteínas receptoras de cannabinoides que se expresan en todo el sistema nervioso central de los mamíferos (incluyendo el cerebro) y el sistema nervioso periférico. El sistema endocanabinoide participa en la regulación de una variedad de procesos fisiológicos y cognitivos, incluyendo la fertilidad, el embarazo, el desarrollo pre- y postnatal, el apetito, la sensación de dolor, el estado de ánimo y la memoria, y en la mediación de los efectos farmacológicos del cannabis.
- 30

Los "cannabinoides sintéticos" son compuestos que tienen una estructura similar a la de los cannabinoides y se fabrican mediante medios químicos en lugar de mediante la planta.

- 35 A continuación se describen algunos cannabinoides con más detalle. Aunque se sabe poco sobre estos cannabinoides, las preparaciones y composiciones de CBD descritas en el presente documento que comprenden uno o más de estos componentes muestran una eficacia sorprendente, particularmente cuando se comparan con composiciones de CBD puras y / o sintéticas.

#### Canabidiol (CBD)

- 40 El CBD es un componente canabinoide importante de las especies de Cannabis, como la planta de cáñamo (*Cannabis sativa*). A diferencia de otros cannabinoides, como el THC, el CBD no se une a CB1 o CB2, o su unión a los receptores es insignificante en términos de inducir un efecto farmacológico. Por tanto, el CBD no provoca los efectos sobre el sistema nervioso central o periférico mediados por los receptores CB1 o CB2. El CBD tiene poca o ninguna actividad psicotrópica (canabimimética) y su estructura molecular y propiedades son sustancialmente diferentes a las de otros cannabinoides.

- 45 La administración de CBD ha sido objeto de investigación en un intento de proporcionar un tratamiento alternativo para diversas enfermedades y trastornos que pueden responder a dicho tratamiento.

En algunas realizaciones, el CBD se aísla de una planta de cannabis. En algunas realizaciones, el CBD se prepara sintéticamente. En algunas realizaciones, el CBD está presente como (-)-trans-CBD.

#### Tetrahidrocanabinol (THC)

- 50 El THC es el principal componente psicoactivo del cannabis.

La molécula de THC puede existir en cuatro formas quirales distintas como se muestra en la Figura 2. El THC tiene 2 estereocentros que a su vez permiten la existencia de 4 estereoisómeros: (+)-trans-THC; (-)-trans-THC; (+)-cis-THC y (-)-cis-THC. El THC ocurre comúnmente en la naturaleza como el isómero (-)-trans-THC (Hollister, 1970)

La molécula de THC ocurre principalmente como (-)-trans- $\Delta^9$ -tetrahidrocanabinol, sin embargo también se sabe que existe el homólogo (-)-trans- $\Delta^8$ -tetrahidrocanabinol. El experto en la técnica notará que la referencia al compuesto THC puede referirse al homólogo  $\Delta^8$  o al  $\Delta^9$ .

5 En algunas realizaciones, el THC se aísla de una planta de cannabis. En algunas realizaciones, el THC se prepara sintéticamente. En algunas realizaciones, el THC está presente como (-)-trans-THC. En algunas realizaciones, el THC está presente como (-)-cis-THC. En algunas realizaciones, el THC está presente como (+)-trans-THC. En algunas realizaciones, el THC está presente como (+)-cis-THC.

En algunas realizaciones, el THC está presente como una mezcla de isómeros. En algunas realizaciones, la mezcla comprenderá uno o más de (+)-trans-THC, (-)-trans-THC, (+)-cis-THC y (-)-cis-THC.

10 Canabidivarina (CBDV)

La CBDV es un homólogo del CBD, con la cadena lateral acortada por dos puentes de metileno. En algunas realizaciones, la CBDV se aísla de una planta de cannabis. En algunas realizaciones, la CBDV se prepara sintéticamente. En algunas realizaciones, la CBDV está presente como (-)-trans-CBDV.

Canabidiol-C1 (CBD-C1)

15 En algunas realizaciones, el CBD-C1 se aísla de una planta de cannabis. En algunas realizaciones, el CBD-C1 se prepara sintéticamente. En algunas realizaciones, el CBD-C1 está presente como (-)-trans-CBD-C1.

Canabidiol-C4 (CBD-C4)

En algunas realizaciones, el CBD-C4 se aísla de una planta de cannabis. En algunas realizaciones, el CBD-C4 se prepara sintéticamente. En algunas realizaciones, el CBD-C4 está presente como (-)-trans-CBD-C4.

20 Preparaciones de CBD

La presente divulgación proporciona ciertas preparaciones de CBD, caracterizadas por componentes químicos y/o propiedades funcionales que las distinguen de las composiciones anteriores de CBD.

25 En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o más de aproximadamente 99% de los otros componentes con los que se asociaron inicialmente. La preparación de CBD comprende al menos 98% de CBD sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.

En algunas realizaciones, el CBD comprende la isoforma (-)-trans-CBD.

30 La preparación de CBD comprende además tetrahidrocanabinol (THC). En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende hasta aproximadamente 1%, o aproximadamente 2% de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación. En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende no más del 0.15% de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación. La preparación de CBD comprende al menos aproximadamente 0.1% de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación. En algunas realizaciones, el THC comprende  $\Delta^9$ -THC.

35 En algunas realizaciones, el THC está presente como una mezcla de diferentes isómeros. En algunas realizaciones, el THC comprende trans-THC y cis-THC. En algunas realizaciones, el trans-THC y el cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 5:1 (trans-THC:cis-THC). En algunas realizaciones, el trans-THC y el cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 3.5:1 (trans-THC:cis-THC). En algunas realizaciones, el trans-THC y el cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 2:1 (trans-THC:cis-THC). En algunas realizaciones, el trans-THC y el cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 1:1 (trans-THC:cis-THC). En algunas realizaciones, el trans-THC y el cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 0.8:1 (trans-THC:cis-THC).

45 En algunas realizaciones, el cis-THC está presente como una mezcla de (-)-cis-THC y (+)-cis-THC. En algunas realizaciones, el (-)-cis-THC y el (+)-cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 20:1 a 1:20 ((-)-cis-THC:(+)-cis-THC). En algunas realizaciones, el (-)-cis-THC y el (+)-cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 15:1 a 1:15 ((-)-cis-THC:(+)-cis-THC). En algunas realizaciones, el (-)-cis-THC y el (+)-cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 10:1 a 1:10 ((-)-cis-THC:(+)-cis-THC). En algunas realizaciones, el (-)-cis-THC y el (+)-cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 9:1 a 1:9 ((-)-cis-THC:(+)-cis-THC). En algunas realizaciones, el (-)-cis-THC y el (+)-cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 5:1 a 1:5 ((-)-cis-THC:(+)-cis-THC). En algunas realizaciones, el (-)-cis-THC y el (+)-cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 3:1 a 1:3 ((-)-cis-THC:(+)-cis-THC). En algunas realizaciones, el (-)-cis-THC y el (+)-cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 2:1 a 1:2 ((-)-cis-THC:(+)-cis-THC). En algunas realizaciones, el (-)-cis-THC y el (+)-cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 1:1 ((-)-cis-THC:(+)-cis-THC). En algunas realizaciones, el (-)-cis-THC y el (+)-cis-THC están presentes en una relación de aproximadamente 9:1 ((-)-cis-THC:(+)-cis-THC).

En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende uno o más cannabinoides distintos del THC. En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende no más del 2% de cannabinoides distintos del CBD sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.

5 En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende canabidivarina (CBDV). En algunas realizaciones, el CBDV comprende la isoforma (-)-trans-CBDV. En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende aproximadamente 0.2% a aproximadamente 0.8% de CBDV sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.

10 En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende CBD-C4 (CBD-C4). En algunas realizaciones, el CBD-C4 comprende la isoforma (-)-trans-CBD-C4. En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende de aproximadamente 0.3% a aproximadamente 0.4% de CBD-C4 sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.

15 En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende CBD-C1 (CBD-C1). En algunas realizaciones, el CBD-C1 comprende la isoforma (-)-trans-CBD-C1. En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende de aproximadamente 0.1% a aproximadamente 0.15% de CBD-C1 sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.

20 En algunas realizaciones, al menos una porción de al menos uno de los cannabinoides presentes en una preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis. En algunas realizaciones, al menos una porción del CBD presente en una preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis. En algunas realizaciones, al menos una porción del THC presente en una preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis. En algunas realizaciones, sustancialmente la totalidad de al menos uno de los cannabinoides presentes en una preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis. En algunas realizaciones, sustancialmente todo el CBD presente en una preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis. En algunas realizaciones, sustancialmente todo el THC presente en una preparación de CBD se aísla del material de la planta de cannabis. En algunas realizaciones, sustancialmente todos los cannabinoides presentes en una preparación de CBD se aíslan del material de la planta de cannabis. En algunas realizaciones, el material de la planta de cannabis proviene de una planta de *Cannabis sativa*, *Cannabis indica*, o *Cannabis ruderalis*. En algunas realizaciones, la planta de cannabis es un quimiotipo de cannabis con alto contenido de CBD. En algunas realizaciones, la planta de cannabis es un quimiotipo de cannabis con alto contenido de CBD, de *Cannabis sativa* L. En algunas realizaciones, el material de la planta de cannabis comprende de aproximadamente 5% a aproximadamente un 20% de CBD sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación. En algunas realizaciones, el material de la planta de cannabis comprende de aproximadamente 10% a aproximadamente 15% de CBD sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación. En algunas realizaciones, el material de la planta de cannabis comprende trans-THC y cis-THC presentes en una relación de aproximadamente 3.5:1 (trans-THC:cis-THC). En algunas realizaciones, el material de la planta de cannabis comprende trans-THC y cis-THC presentes en una relación de aproximadamente 0.8:1 (trans-THC:cis-THC).

#### Métodos para fabricar preparaciones de CBD

40 En el contexto de esta solicitud, una "sustancia farmacológica botánica" es un extracto derivado de material vegetal de *cannabis*, cuyo extracto cumple la definición de "sustancia farmacológica botánica" provista en el Guidance for Industry Botanical Drug Products Draft Guidance, agosto de 2000, US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research de: "Una sustancia farmacológica derivada de una o más plantas, algas u hongos macroscópicos. Se prepara a partir de materias primas botánicas mediante uno o más de los siguientes procesos: pulverización, decocción, expresión, extracción acuosa, extracción etanólica u otros procesos similares".

45 "Material vegetal" se define como una planta o material vegetal (por ejemplo, corteza, madera, hojas, tallos, raíces, flores, frutos, semillas, bayas o partes de los mismos), así como exudados, e incluye material que cae dentro de la definición de "materia prima botánica" en la Guidance for Industry Botanical Drug Products Draft Guidance, agosto de 2000, US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research.

50 El método de la invención puede utilizarse para extraer cannabinoides de un material vegetal específico y definido del que se sabe que contiene dichos cannabinoides. Lo más típico, aunque no necesariamente, es que el "material vegetal" sea "material vegetal" o "materia prima botánica" derivada de una o más plantas de *cannabis*. Lo más típico, aunque no necesariamente, es que la una o más plantas de *cannabis* serán una planta de cannabis específica y definida, cultivada para producir un alto rendimiento de CBD.

55 El término "planta(s) de *Cannabis*" abarca el tipo silvestre *Cannabis sativa* y también variantes de la misma, incluyendo *cannabis* quimiovars que contienen naturalmente diferentes cantidades de cannabinoides individuales, plantas de *Cannabis sativa* que son el resultado de cruces genéticos, autocruces o híbridos de los mismos. El término "material vegetal de *Cannabis*" debe interpretarse en consecuencia como que abarca el

material vegetal derivado de una o más plantas de *cannabis*. Para evitar dudas, se hace constar que "material vegetal de *cannabis*" incluye biomasa seca de *cannabis*. En algunas realizaciones, al menos una porción de los ácidos canabinoides en dicho material vegetal de *cannabis* está descarboxilada.

*Plantas de cannabis*

5 La presente invención utiliza plantas y variedades de cannabis cultivadas para tener perfiles y contenidos de cannabinoides predeterminados, especificados. En algunas realizaciones, un canabinoide puede ser CBD, THC, CBDA, CBDV, CBD-C1 o CBD-C4. En algunas realizaciones, las plantas de cannabis tienen perfiles y contenidos de terpenos predeterminados y especificados. En algunas realizaciones, las plantas de cannabis tienen perfiles y contenidos de sesquiterpenos predeterminados y especificados. En algunas realizaciones, una  
10 planta de cannabis es una planta de *Cannabis sativa*, *Cannabis indica*, o *Cannabis ruderalis*.

*Cultivo de cannabis*

En algunas realizaciones, las plantas de cannabis se propagan a partir de esquejes tomados de una planta madre. En algunas realizaciones, una planta madre se origina a partir de una única fuente de semillas. En algunas realizaciones, un cultivo se produce mediante propagación asexual. En algunas realizaciones, todas  
15 las plantas de un cultivo son hembras. En algunas realizaciones, la propagación mediante esquejes controla la consistencia del genotipo.

En algunas realizaciones, el ciclo de crecimiento es de aproximadamente 12 semanas. En algunas realizaciones, mediante condiciones de cultivo controladas, las plantas de cannabis tardan aproximadamente 12 semanas en alcanzar la madurez. En algunas realizaciones, las plantas de cannabis se riegan durante todo  
20 su ciclo de crecimiento con agua de calidad potable. En algunas realizaciones, no se utilizan herbicidas ni pesticidas sintéticos en el cultivo de plantas de cannabis. En algunas realizaciones, se pueden utilizar condiciones de higiene estrictas para reducir la entrada de plagas y enfermedades, particularmente en ausencia de herbicidas o pesticidas. En algunas realizaciones, se utiliza el control de las condiciones de crecimiento para reducir o eliminar el estrés ambiental, para optimizar el rendimiento del material vegetal, el contenido de cannabinoides y/o controlar enfermedades. En algunas realizaciones, las tensiones ambientales pueden incluir  
25 sequía, luz insuficiente, tiempos inadecuados del ciclo de luz y temperaturas desfavorables. Además, la inspección regular de las plantas durante el ciclo de crecimiento permite detectar plantas dañinas y plagas. Pueden aparecer plantas macho dañinas, aunque las malezas deberían estar ausentes debido a las condiciones y medios de cultivo controlados. Se utilizan inspecciones frecuentes y métodos de control biológico para controlar cualquier plaga y enfermedad que pueda surgir.  
30

En algunas realizaciones, a través de un control estricto de las condiciones de crecimiento, las plantas de Cannabis alcanzan la madurez en aproximadamente 12 semanas. En algunas realizaciones, en las últimas semanas de crecimiento, se desarrollan flores densas y resinosas. En algunas realizaciones, hacia el final de aproximadamente la semana 11, la biosíntesis de cannabinoides se ha ralentizado marcadamente y las plantas  
35 están listas para la cosecha.

*Cosecha y procesamiento del cannabis*

En algunas realizaciones, se corta y seca toda la planta en un ambiente con temperatura y/o humedad controladas. En algunas realizaciones, la temperatura es de aproximadamente 21 °C. En algunas realizaciones, la humedad es de aproximadamente 38 - 45% de HR.

40 El THC y el CBD son los principales constituyentes bioactivos del BDS. Sin embargo, estos constituyentes están presentes como los ácidos carboxílicos THCA y CBDA en el BRM. Las formas ácidas se descarboxilan lentamente con el tiempo durante el secado. Las hojas y las flores se quitan de los tallos más grandes para proporcionar la Materia Prima Botánica (BRM). En condiciones de almacenamiento la pérdida por secado alcanza un equilibrio de aproximadamente el 10%. Las condiciones de almacenamiento del BRM seco dependerán del estado físico del BRM. En algunas realizaciones, la BRM se almacena protegida de la luz. En  
45 algunas realizaciones, la BRM se almacena a aproximadamente 15 - 25°C. En algunas realizaciones, la BRM se almacena a aproximadamente -20 °C. En algunas realizaciones, el BRM se almacena a aproximadamente 20 °C. En algunas realizaciones, el BRM se almacena a aproximadamente 38 - 42% de HR.

Resumen de la producción ejemplar de un BRM:

- 50 • Plantas de cosecha
- Secado (en ausencia de luz)
- Producción de Materia Prima Botánica (MBR) que comprende ácidos cannabinoides
- 55 • Molienda a menos de 2000µm para reducir el tamaño de partícula

## ES 3 000 752 T3

- Descarboxilación de los ácidos cannabinoides a su forma neutra (por ejemplo, CBDA a CBD)

En la siguiente Tabla A se ilustra una especificación de BRM ejemplar derivada de una variedad con alto contenido de CBD:

Tabla A: Especificación BRM ejemplar

Prueba	Método	Especificación
Identificación:		
-A	Visual	Cumple
-B	TLC	Corresponde al estándar (para CBD y CBDA)
-C	HPLC/UV	Positivo para CBDA
Ensayo: CBDA + CBD	En casa (HPLC/UV)	NLT 90% de los cannabinoides ensayados por área de pico
Pérdida por secado	Ph. Eur.	NMT 15%
Aflatoxina	Método UKAS	NMT 4ppb
Microbiano:	Ph. Eur.	NMT 10 <sup>7</sup> ufc/g
- TVC		NMT 10 <sup>5</sup> ufc/g
- Hongos		
- E. coli		NMT 10 <sup>2</sup> ufc/g
Materia extraña:	Ph. Eur.	NMT 2%
Herbicidas y pesticidas residuales	Ph. Eur.	Cumple

5

### *Caracterización de las preparaciones de CBD*

- Identificación por Visual:

Las características macroscópicas permiten distinguir los rasgos de la planta de Cannabis de potenciales adulterantes y sustitutos. Es una identificación visual contra un estándar fotográfico.

10

- Identificación por TLC:

La TLC utiliza tanto el valor de retención de la sustancia (Rf) como el color característico de la mancha para identificar eficazmente la variedad de Cannabis. Las muestras de laboratorio se preparan para el análisis por TLC extrayendo la hierba seca. Se aplica una alícuota en una placa TLC, junto con muestras de referencia para THC y CBD. Después de la exposición al reactivo Fast Blue B, el THC y el THCA se presentan como manchas rosas, mientras que el CBD y el CBDA son de color naranja. Los neutros se pueden distinguir de los ácidos mediante la comparación del valor Rf con el obtenido para los estándares. La identidad se confirma mediante la comparación del Rf y el color de la mancha de muestra con el obtenido para el estándar apropiado.

15

- Identificación por HPLC:

La HPLC utiliza la comparación del tiempo de retención de los cannabinoides para identificar eficazmente la variedad de Cannabis. El método HPLC de fase inversa es específico para CBD y CBDA y, por lo tanto, puede utilizarse como prueba de identidad. Se extraen muestras de biomasa y se centrifugan. La detección de todos los analitos se logra a 220 nm con confirmación adicional de analitos ácidos a 310 nm.

20

- Ensayo (CBD + CBDA):

Este ensayo se puede utilizar para monitorear el contenido de CBD y CBDA en la planta. El ensayo de CBD y CBDA son determinados utilizando un método HPLC. La eficiencia del proceso de descarboxilación se puede determinar dividiendo el contenido en % en términos de p/p de CBD por el contenido total de CBD + CBDA.

- Materia extraña:

- 5 La Materia Extraña se evalúa utilizando el método de prueba Ph.Eur. Las flores, las hojas y los tallos laterales se extienden en una capa fina sobre una superficie de laboratorio limpia. La Materia Extraña se separa a mano tan completamente como sea posible y se pesa. Los resultados se expresan como % p/p de materia extraña en la muestra de biomasa herbácea. La Materia Extraña no puede representar más del 2% de la biomasa.

- Descarboxilación

- 10 El THC y el CBD son los principales componentes bioactivos del Cannabis. Sin embargo, estos constituyentes están presentes como sus respectivos ácidos carboxílicos en las plantas de Cannabis. Para extraer THC o CBD del material vegetal de cannabis, es necesario convertir los compuestos precursores de almacenamiento de THCA y CBDA en sus formas más fácilmente extraíbles y farmacológicamente activas. Los ácidos THC y CBD se descarboxilan lentamente y de forma natural con el tiempo. La forma tradicional de aumentar la tasa de descarboxilación es mediante la aplicación de calor. Sin embargo, el THCA no sólo se convierte en THC, sino también en otro canabinoide, el canabinol (CBN).
- 15

El procedimiento de descarboxilación se lleva a cabo generalmente dentro de la preparación del material de partida o materia prima botánica (BRM), antes del inicio del proceso de extracción.

- Descripción general del proceso de extracción ejemplar:

- 20 El BDS se puede extraer del BRM descarboxilado utilizando la metodología de dióxido de carbono líquido. Ésta involucra el paso continuo de dióxido de carbono licuado a través de la biomasa picada, que se encuentra contenida en un recipiente de alta presión. El extracto crudo se disuelve en etanol, se enfría a baja temperatura y luego se filtra para eliminar los constituyentes precipitados, como las ceras. La eliminación de etanol y agua al vacío produce BDS que contiene altas concentraciones de CBD o THC, dependiendo de la biomasa utilizada.
- 25 En el documento EP 2 311 475 se describen y divulgan métodos adicionales relacionados con la purificación y caracterización de preparaciones de CBD.

Composiciones y formulaciones

- Las preparaciones de CBD pueden formularse sobre la base del modo de administración previsto. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la administración puede ser ocular, oral, parenteral, tópica, etc. En algunas realizaciones, una preparación de CBD puede formularse con uno o más excipientes para aumentar la estabilidad, aumentar la vida útil o aumentar la eficacia. En algunas realizaciones, se formula una preparación de CBD para administración oral. En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende aceite de sésamo. En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende etanol. En algunas realizaciones, el etanol es etanol anhidro. En algunas realizaciones, una preparación de CBD comprende un saborizante. En algunas realizaciones, el saborizante puede ser un edulcorante. En algunas realizaciones, el edulcorante puede ser un edulcorante artificial, por ejemplo, sacarina, acesulfame, aspartame, neotame o sucralosa. En algunas realizaciones, el saborizante puede ser un sabor artificial. En algunas realizaciones, el sabor artificial puede ser, por ejemplo, vainilla, limón, naranja, lima, pomelo, yuzu, sudachi, manzana, pera, melocotón, uva, arándano, fresa, frambuesa, cereza, ciruela, ciruela pasa, uva pasa, cola, guaraná, neroli, piña, albaricoque, banano, melón, albaricoque, ume, cereza, frambuesa, mora, fruta tropical, mango, mangostán, granada, papaya, combinaciones de los mismos o similares.
- 30
- 35
- 40

Las preparaciones de canabinoides divulgadas en el presente documento pueden formularse para su administración de acuerdo con métodos conocidos en la técnica.

Usos

- 45 *Enfermedades, trastornos y afecciones*

- Las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son útiles para proporcionar analgesia, neuroprotección, reducir la inflamación, ayudar a aliviar las náuseas y la emesis, así como tratar la epilepsia, los trastornos de ansiedad y el glaucoma. Además, las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son útiles para proporcionar tratamiento o mejoría de los síntomas en pacientes que padecen disfunción neurológica o comorbilidades asociadas con dichos trastornos. En algunas realizaciones, las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son más eficaces para tratar estos trastornos, que las composiciones anteriores de CBD. En algunas realizaciones, una preparación de CBD de la presente invención puede administrarse en una dosis más baja de CBD, que una preparación de CBD sintética que comprende concentraciones iguales o similares de CBD.
- 50

El dolor es un problema clínico común al que se enfrentan todos los médicos. Millones de personas en los Estados Unidos sufren de dolor severo que, de acuerdo con numerosos informes recientes, está crónicamente subtratado o manejado de manera inadecuada. De manera similar, millones de personas también sufren náuseas intensas y/o emesis frecuentes. Además, con demasiada frecuencia, muchos pacientes que sufren dolores crónicos, poco tratados o irremediables también sufren falta de apetito, náuseas y/o vómitos frecuentes. Estos pacientes presentan un desafío clínico mayor ya que no pueden recibir dosis eficaces de analgésicos orales, dejando de ese modo su dolor sin alivio. Además, las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento pueden reducir las náuseas y los vómitos del paciente, independientemente del alivio de cualquier dolor logrado. Por lo tanto, las preparaciones de CBD divulgadas son particularmente útiles en pacientes que experimentan náuseas y vómitos secundarios a un dolor no tratado o tratado de forma insuficiente. En algunas realizaciones, las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son más eficaces para aliviar el dolor que las composiciones anteriores de CBD.

Un porcentaje notable de la población de los Estados Unidos satisface los criterios de diagnóstico para los trastornos por consumo de alcohol ("AUDs"). El consumo de cantidades excesivas de alcohol produce un arreglo complejo de efectos farmacológicos que inciden directamente en la capacidad de tratar la enfermedad. Estos efectos impactan directamente al cerebro e incluyen neurodegeneración progresiva, deterioro de la función ejecutiva y dependencia, que conducen a efectos negativos inducidos por la abstinencia. Las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento tienen efectos neuroprotectores, ansiolíticos y anticonvulsivos, que pueden ser eficaces para prevenir daño cerebral adicional en personas con AUDs, mientras simultáneamente disminuyen simultáneamente la frecuencia de recaídas. En algunas realizaciones, las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son más eficaces para tratar estos trastornos que las composiciones anteriores de CBD.

Quienes abusan de manera crónica del cannabis pueden desarrollar dependencia y experimentar síntomas de abstinencia cuando intentan suspender el uso de la droga. En conjunto, la dependencia y la abstinencia del cannabis se denominan en el presente documento como trastornos por consumo de cannabis. Las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son útiles en el tratamiento de los trastornos por consumo de cannabis. En algunas realizaciones, las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son más eficaces para tratar estos trastornos que las composiciones anteriores de CBD.

La distonía es un trastorno neurológico del movimiento, con muchas causas conocidas, y caracterizado por contracciones musculares involuntarias y continuas que provocan movimientos de torsión y repetitivos o posturas anormales. En algunas realizaciones, las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son útiles para reducir las contracciones musculares características de este trastorno. Las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son más eficaces en el tratamiento de estos trastornos que las composiciones anteriores de CBD.

La patología etiológica de muchas enfermedades se relaciona con los procesos inflamatorios que están regulados por el sistema inmunológico de un individuo. La inflamación puede ser resultado de (1) una respuesta inmunológica apropiada a un traumatismo externo, como una hinchazón cerebral secundaria a una lesión cerrada en la cabeza; (2) una respuesta inmunológica hiperactiva, como una reacción alérgica o dermatitis; o (3) una respuesta autoinmune inadecuada, como ciertas formas de esclerosis múltiple, trastornos inflamatorios intestinales y artritis. Independientemente de la causa subyacente de la inflamación, en estas circunstancias es terapéuticamente deseable regular el sistema inmunitario y disminuir la respuesta inflamatoria. Las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento pueden regular diversos pasos de la respuesta inmunológica y podrían mostrar algún beneficio terapéutico en el tratamiento de ciertas enfermedades inflamatorias como la artritis psoriática. En algunas realizaciones, las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son más eficaces para tratar estos trastornos que las composiciones anteriores de CBD.

La artritis reumatoide afecta aproximadamente 0.5-1% de la población de los Estados Unidos, y las enfermedades autoinmunes en general afectan a más de 20 millones de estadounidenses. El dolor asociado con la artritis reumatoide frecuentemente puede ser incapacitante. Se ha encontrado que los cannabinoides son útiles como tratamiento complementario para la artritis reumatoide y el dolor articular secundario a otras enfermedades autoinmunes, como la enfermedad inflamatoria intestinal, la esclerosis múltiple y el lupus eritematoso sistémico. En algunas realizaciones, las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son más eficaces para tratar estos trastornos que las composiciones anteriores de CBD.

Además de los beneficios terapéuticos discutidos anteriormente, los cannabinoides, como el CBD y los profármacos de CBD, presentan una variedad de beneficios farmacológicos, que incluyen, pero sin limitarse a, efectos antiinflamatorios, anticonvulsivos, antipsicóticos, antioxidantes, neuroprotectores, anticancerígenos e inmunomoduladores. Las preparaciones de CBD divulgadas en el presente documento son más eficaces en el tratamiento de estos trastornos que las composiciones anteriores de CBD.

La presente invención proporciona preparaciones y composiciones de CBD y usos para tratar y/o prevenir cualquiera de una variedad de enfermedades, trastornos y/o afecciones, incluyendo, pero sin limitarse a, las divulgadas en el presente documento. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona

preparaciones y composiciones de CBD y usos para tratar y/o prevenir enfermedades, trastornos o afecciones asociadas con la disfunción neurológica o la neurodiferenciación. En algunas realizaciones, las enfermedades, trastornos o afecciones asociadas con la disfunción neurológica o la neurodiferenciación son aquellas en las que el desarrollo neural es defectuoso. Estas enfermedades, trastornos o afecciones frecuentemente están relacionadas con la plasticidad neural del cerebro y pueden incluir, pero sin limitarse a, trastornos convulsivos como la epilepsia. Estos trastornos convulsivos frecuentemente se asocian con comorbilidades como deterioro cognitivo y psiquiátrico que pueden deberse a las convulsiones en sí o a los medicamentos utilizados para tratarlas. Las condiciones comórbidas de las que se sabe que ocurren en los trastornos convulsivos incluyen, pero sin limitarse a, trastornos del sistema musculoesquelético, trastornos gastrointestinales y digestivos, trastornos del sistema respiratorio, trastornos de dolor crónico, accidentes cerebrovasculares, migraña, neoplasia, artritis/reumatismo, obesidad, diabetes, infecciones, fracturas y alergias. Trastornos psiquiátricos como depresión; ansiedad; trastornos del espectro autista; trastorno disfórico interictal; síndrome de conducta interictal y psicosis de la epilepsia. Trastornos cognitivos como disfunción cognitiva; habilidades del lenguaje; socialización; trastorno por déficit de atención e hiperactividad; discapacidad de aprendizaje; retraso mental; y enfermedad de Alzheimer/demencia.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno es un trastorno convulsivo. En algunas realizaciones, el trastorno convulsivo es epilepsia, síndrome de Dravet, síndrome de Lennox Gastaut, síndrome de epilepsia relacionada con infección febril (FIRES), síndrome de Doose, síndrome de Sturge Weber, mutación CDKL5; síndrome de Aicardi; polimicrogiria bilateral; Dup15q; SNAP25; epilepsia rolándica benigna; epilepsia mioclónica juvenil; espasmo infantil (síndrome de West); y síndrome de Landau-Kleffner, epilepsia refractaria, espasmos juveniles, síndrome de West, espasmos infantiles, espasmos infantiles refractarios, complejo de esclerosis tuberosa (TSC); trastorno de almacenamiento neurogenético, lipofuscinosis neuronal ceroida (NCL), enfermedad de Batten, anomalía cerebral, atónica, idiopática, crisis de ausencia, crisis parcial, crisis parcial simple o crisis parcial compleja.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno es una enfermedad neurodegenerativa; enfermedad de Alzheimer; enfermedad de Parkinson; temblor esencial; esclerosis lateral amiotrófica (ALS); enfermedad de Huntington; ataxia de Friedreich; esclerosis múltiple; demencia frontotemporal; enfermedad priónica; demencia con cuerpos de Lewy; parálisis supranuclear progresiva; demencia vascular; hidrocefalia con presión normal; lesión traumática de la médula espinal; demencia por VIH; neurotoxicidad inducida por alcohol; síndrome de Down; trastornos del movimiento del sistema nervioso central y/o periférico; enfermedades de la neurona motora (MND); atrofia muscular espinal; o cualquier otra enfermedad neurodegenerativa neurológica o psiquiátrica relacionada; daño cerebral; lesión cerebral; disfunción cerebral; disgrafía; disartria; apraxia; agnosia; amnesia; mareos; vértigo; coma; accidente cerebrovascular; daño de la médula espinal; lesión de la médula espinal; trastornos de la médula espinal; neuropatía central; neuropatía periférica; trastorno de los nervios craneales; neuralgia del trigémino; tumores del sistema nervioso; infecciones del cerebro o la médula espinal; encefalitis; meningitis; enfermedad priónica; síndrome de dolor regional complejo; un trastorno del sistema nervioso autónomo; neuropatía autónoma; disautonomía; síndrome de taquicardia ortostática postural (POTS); síncope neurocardiogénico (NCS); atrofia multisistémica (MSA); neuropatía hereditaria sensitiva y autónoma (HSAN); síndrome de Holmes-Adie (HAS); un trastorno del sueño; narcolepsia; dolor; migraña; cefalea en racimos; cefalea tensional; dolor de espalda; dolor lumbar; dolor de cuello; dolor neuropático; dolor por cáncer; alodinia; dolor artrítico; dolor inflamatorio; un trastorno neuropsiquiátrico; trastorno por déficit de atención con hiperactividad; autismo; síndrome de Tourette; trastorno obsesivo compulsivo; un trastorno del espectro autista; síndrome de Rett; síndrome del cromosoma X frágil; síndrome de Angelman; trastorno hiperquinético; síndrome de Tourette; distonía; un cáncer; cáncer de cerebro; glioma; cáncer de mama; cáncer de hígado; cáncer de pulmón; cáncer de páncreas; melanoma; cáncer de ovario; cáncer gástrico; cáncer renal; cáncer de vejiga; adicción; adicción a la nicotina; tabaquismo; adicción al alcohol; adicción a las drogas; trastorno por consumo de cannabis; un trastorno mental; trastorno de estrés postraumático; ansiedad; psicosis temprana; esquizofrenia; un trastorno cognitivo; accidente cerebrovascular; isquemia cardíaca; enfermedad de la arteria coronaria; tromboembolia; infarto de miocardio; enfermedad relacionada con la isquemia; un trastorno gastrointestinal; enfermedad inflamatoria intestinal; enfermedad de Crohn; colitis ulcerosa; náuseas; vómitos; emesis; mareo por movimiento; náuseas inducidas por quimioterapia; náuseas y vómitos inducidos por quimioterapia; inflamación; artritis; artritis reumatoide; osteoartritis; diabetes; presión arterial alta; control deficiente de la insulina; supresión del apetito; anorexia; encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal (NHIE); una enfermedad degenerativa del músculo esquelético; o distrofia muscular de Duchenne (DMD).

#### 55 *Dosificación y administración*

El régimen exacto para la administración de los compuestos descritos en el presente documento puede depender de las necesidades del sujeto individual que se está tratando, el tipo de tratamiento administrado y/o el criterio del especialista médico tratante. Como se utilizan en el presente documento, los términos "sujeto" y "paciente" incluyen tanto a seres humanos como a animales. En algunas realizaciones, el sujeto o paciente es un adulto humano, un adolescente humano, un niño humano o un bebé humano. Como notarán los expertos en la técnica, la dosificación administrada dependerá de la afección que se está tratando, la edad, la salud y el peso del receptor, el tipo de tratamiento concurrente, si lo hay, y la frecuencia del tratamiento.

En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que comprende CBD se puede administrar en una cantidad terapéuticamente eficaz. Se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de acuerdo con un régimen de dosificación que comprende una o más dosis unitarias. Generalmente, una cantidad terapéuticamente eficaz es suficiente para lograr un beneficio para el sujeto (por ejemplo, profilaxis, tratamiento, modulación, curación, prevención y/o mejoría de una enfermedad o trastorno).

Una cantidad terapéuticamente eficaz (y/o dosis unitaria) de una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende, para cualquier paciente en particular, puede depender de una variedad de factores que incluyen la enfermedad o trastorno que se está tratando; la gravedad de la enfermedad o trastorno; la actividad de la preparación de CBD específica o una composición farmacéutica que la comprende empleada; la preparación de CBD específica o una composición farmacéutica que la comprende empleada; la edad; el peso corporal; la condición física; las condiciones comórbidas (por ejemplo, distintas de las enfermedades o trastorno(s) que se está(n) tratando), la salud general; el sexo; y la dieta del paciente; la historia personal; la característica genética; el parámetro de estilo de vida; la gravedad del defecto cardíaco y/o el nivel de riesgo de defecto cardíaco; el momento de administración; la ruta de administración; los tratamientos o medicamentos concomitantes; y/o la tasa de excreción o metabolismo de la preparación de CBD específica o una composición farmacéutica que la comprende empleada; la duración del tratamiento; combinaciones de los mismos; así como otros factores bien conocidos en las técnicas médicas. En vista de la presente divulgación, una persona con destreza ordinaria en la técnica podrá determinar fácilmente las dosificaciones apropiadas, dependiendo de estos y otros factores relacionados. Además, se pueden emplear opcionalmente ensayos objetivos y subjetivos para identificar intervalos de dosificaciones óptimas. En algunas realizaciones particulares, las dosis o cantidades apropiadas que se van a administrar se pueden extrapolar en vista de la presente divulgación, a partir de curvas dosis-respuesta derivadas de sistemas de prueba *in vitro* o de modelo animal.

La presente invención contempla regímenes de dosificación que comprenden administraciones únicas y múltiples de una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende descrita en el presente documento. Una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende se puede administrar a intervalos regulares, dependiendo de la naturaleza, la gravedad y la extensión de la afección del sujeto. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende, puede ser administrada periódicamente a intervalos regulares (por ejemplo, una vez al año, una vez cada seis meses, una vez cada cinco meses, una vez cada tres meses, bimestralmente (una vez cada dos meses), mensualmente (una vez al mes), quincenalmente (una vez cada dos semanas), semanalmente, diariamente, varias veces al día o de forma continua).

Se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de acuerdo con un régimen de dosificación que puede comprender múltiples dosis unitarias. Para cualquier preparación particular de CBD o una composición farmacéutica que la comprenda, una cantidad terapéuticamente eficaz (y/o una dosis unitaria apropiada dentro de un régimen de dosificación eficaz) puede variar, por ejemplo, dependiendo de la ruta de administración o de la combinación con otros agentes farmacéuticos.

En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende descrita en el presente documento puede administrarse como una dosis única. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende descrita en el presente documento puede administrarse a intervalos regulares. La administración a un "intervalo", como se utiliza en el presente documento, indica que la cantidad terapéuticamente eficaz se administra periódicamente (a diferencia de una dosis de una vez). El intervalo se puede determinar mediante técnicas clínicas estándar. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende descrita en el presente documento se puede administrar de forma bimestral, mensual, dos veces al mes, trisemanal, quincenal, semanal, dos veces por semana, tres veces por semana, diariamente, dos veces al día, cada seis horas, cada cuatro horas, cada dos horas o cada hora. El intervalo de administración para un individuo determinado no necesita ser fijo, sino que puede variar con el tiempo, dependiendo de las necesidades del individuo.

En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende descrita en el presente documento es administrada a intervalos regulares de forma indefinida. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende descrita en el presente documento es administrada a intervalos regulares durante un período definido.

Se debe entender además que, para cada sujeto en particular, los regímenes de dosificación específicos deberían ajustarse con el tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de la terapia de reemplazo enzimático y que los intervalos de dosificación establecidos en el presente documento son solo ejemplares y no pretenden limitar el alcance o la práctica de la invención reivindicada.

En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende es administrada como una o más dosis para proporcionar aproximadamente 0.1 mg/kg/día de CBD. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende es administrada

como una o más dosis para proporcionar aproximadamente 0.5 mg/kg/día de CBD. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende es administrada como una o más dosis para proporcionar aproximadamente 1 mg/kg/día de CBD. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende es administrada como una o más dosis para proporcionar aproximadamente 5 mg/kg/día de CBD, por ejemplo, para un paciente de 15 kg, se proporcionarían 75 mg de CBD por día. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende es administrada como una o más dosis para proporcionar aproximadamente 10 mg/kg/día de CBD. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende es administrada como una o más dosis para proporcionar aproximadamente 20 mg/kg/día de CBD. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende es administrada como una o más dosis para proporcionar aproximadamente 25 mg/kg/día de CBD. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende es administrada como una o más dosis para proporcionar aproximadamente 50 mg/kg/día de CBD. En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende es administrada como una o más dosis para proporcionar aproximadamente 100 mg/kg/día de CBD.

En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende es administrada en una dosis de aproximadamente 1 mg, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1500 mg o aproximadamente 2000 mg de CBD.

En algunas realizaciones, una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende puede ser administrada como complemento a una terapia convencional para una enfermedad o trastorno.

25 Kits

Algunas realizaciones prevén un kit que comprende una preparación de CBD o una composición farmacéutica que la comprende e instrucciones de uso. En algunas realizaciones, un kit comprende además un dispositivo (por ejemplo, aerosol, jeringa, vaporizador, inhalador, parche, etc.) para la administración de dicha preparación de CBD o composición farmacéutica que lo comprende.

30 **Ejemplos:**

Datos que demuestran las propiedades fisicoquímicas del CBD purificado de derivado botánico

**Ejemplo 1: Proceso ejemplar para la producción de una preparación de CBD purificado de origen botánico**

*Descripción general del proceso*

35 Lo siguiente describe la producción del CBD purificado de origen botánico (>98% p/p) que tiene una composición conocida y constante que se utilizó en los Ejemplos siguientes.

40 El material vegetal cosechado de la planta de *Cannabis sativa* L. fue sometido a una extracción con dióxido de carbono líquido, para producir un extracto botánico que contiene CBD además de otros cannabinoides y componentes no cannabinoides. Luego, el extracto se purificó aún más mediante un método de cristalización con solvente para obtener CBD purificado de origen botánico. El proceso de cristalización eliminó específicamente otros cannabinoides y componentes de la planta para producir más del 98% (p/p) de CBD.

45 Tanto el material de partida botánico como el extracto botánico pueden estar controlados por especificaciones. En la Tabla 1.1 a continuación se describe una especificación ejemplar de material de partida botánico para material vegetal de cannabis descarboxilado. En algunas realizaciones, también se puede especificar el contenido isomérico de cada cannabinoide.

Tabla 1.1: Especificación ejemplar de material de partida botánico

BRM descarboxilado	% p/p				
	CDB	THC	CBD-C1	CBDV	CBD-C4
MEDIA	11.96	0.46	0.03	0.14	0.05
MIN	6.90	0.27	0.01	0.08	0.03

ES 3 000 752 T3

BRM descarboxilado	% p/p				
	CDB	THC	CBD-C1	CBDV	CBD-C4
MAX	16.93	0.65	0.04	0.20	0.07
DE	2.30				
%RSO	19.20				
MEDIA-3DE	5.07				
MEDIA+3DE	18.85				
MEDIANA	12.00				
RECUENTO	693				
Relación aproximada de CBD a otros cannabinoides		26	475	85	230

En la Tabla 1.2 a continuación se describe una preparación ejemplar de CBD, de CBD purificado de origen botánico. En algunas realizaciones, también se puede especificar el contenido isomérico de cada cannabinoide.

Tabla 1.2: Especificación de una preparación ejemplar de CBD purificado de origen botánico

Prueba	Método de prueba	Límites
Apariencia	Visual	Cristales de color blanquecino / amarillo pálido
Identificación A	HPLC-UV	El tiempo de retención del pico principal corresponde al Estándar de Referencia de CBD certificado
Identificación B	GC-FID/MS	El tiempo de retención y el espectro de masas del pico principal corresponden al Estándar de Referencia de CBD certificado
Identificación C	FT-IR	Conforme con el espectro de referencia para el Estándar de Referencia de CBD certificado
Identificación D	Punto de fusión	65 - 67°C
Identificación E	Rotación óptica específica	Conforme con el Estándar de Referencia de CBD certificado; -110° a -140° (en etanol al 95%)
Pureza total	Cálculo	≥ 98.0%
Pureza 1 cromatográfica	HPLC-UV	≥ 98.0%
Pureza 2 cromatográfica	GC-FID/MS	≥ 98.0%

CBDA	HPLC-UV	NMT 0.15% p/p
CBDV		NMT 1.0% p/p
$\Delta^9$ THC		NMT 0.1% p/p
- CBD-C4		NMT 0.5% p/p
Disolventes residuales:	GC	
Alcano		NMT 0.5% p/p
- Etanol		NMT 0.5% p/p
Agua Residual	Karl Fischer	NMT 1.0% p/p
i.NMT- No más de		

La pureza de la preparación de CBD purificado de origen botánico fue mayor que o igual al 98%. El CBD purificado de origen botánico incluye THC y otros cannabinoides, por ejemplo, CBDA, CBDV, CBD-C1 y CBD-C4.

- 5 Distintos quimiotipos de la planta de *Cannabis sativa* L. se han producido para maximizar la producción de constituyentes químicos específicos, los cannabinoides. Ciertos quimiovars producen predominantemente CBD. Se cree que solo el isómero (-)-trans del CBD ocurre de forma natural. Durante la purificación, la estereoquímica del CBD no es afectada.

*Producción de la sustancia farmacológica botánica CBD*

- 10 Una descripción general de los pasos para producir un extracto botánico, el intermedio, son los siguientes:

- a. Cultivo
- b. Secado directo
- c. Descarboxilación
- d. Extracción: uso de CO<sub>2</sub> líquido
- 15 e. Descerado con etanol
- f. Filtración
- g. Evaporación

- 20 Se cultivaron quimiovars altos en CBD, se cosecharon, se secaron, se embalaron y se almacenaron en una habitación seca hasta que fueron necesarios. Se picó la materia prima botánica (BRM) finamente utilizando un molino Apex equipado con una malla de 1 mm. Se almacenó el BRM molido en un congelador antes de la extracción.

La descarboxilación de CBDA a CBD fue realizada mediante calor. El BRM se descarboxiló a 115°C durante 60 minutos.

- 25 La extracción fue realizada utilizando CO<sub>2</sub> líquido para producir sustancia farmacológica botánica (BDS), que luego se cristalizó para producir el material de prueba. La BDS CBD cruda fue descerada para refinar el extracto en condiciones estándar (2 volúmenes de etanol a -20°C durante aproximadamente 50 horas). Las ceras precipitadas fueron retiradas por filtración y el disolvente fue retirado para obtener el BDS.

*Producción de preparación de CBD purificado de origen botánico*

- 30 Los pasos de fabricación para producir la preparación de CBD purificado de origen botánico de BDS fueron como sigue:

- a. Cristalización utilizando alcano C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub> de cadena lineal o ramificada
- b. Filtración
- c. Secado al vacío

- 35 Se dispersó el BDS producido utilizando la metodología anterior, en alcano C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub> de cadena lineal o ramificada. La mezcla fue agitada manualmente para romper los grumos y luego el recipiente sellado fue colocado en un congelador durante aproximadamente 48 horas. Los cristales fueron aislados mediante filtración al vacío y fueron lavados con alícuotas de alcano C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub> frío de cadena lineal o ramificada, y secados al vacío de <10mb

a una temperatura de 60°C hasta que se secaron. La preparación de CBD purificado de origen botánico fue almacenada en un congelador a -20°C en un recipiente de acero inoxidable de grado farmacéutico, con sello y abrazaderas de silicona de grado alimenticio aprobados por la FDA.

### 5 **Ejemplo 2: Cuantificación de la estereoquímica del THC presente en preparaciones de CBD purificado de origen botánico**

Como se describió en el Ejemplo 1 anterior, el canabinoide THC está presente en la preparación de CBD purificado de origen botánico en una cantidad no superior al 0.1% (p/p).

10 La molécula de THC puede existir en cuatro formas quirales distintas como se muestra en la Figura 2. El THC tiene 2 estereocentros que a su vez permiten la existencia de 4 estereoisómeros: (+)-trans-THC; (-)-trans-THC; (+)-cis-THC y (-)-cis-THC. Sin embargo, se sabe que el THC es producido en la naturaleza como la isoforma (-)-trans-THC (Hollister, 1970).

Los siguientes ejemplos describen estudios realizados para dilucidar los estereoisómeros que son producidos por la planta alta en CBD utilizada para preparar la preparación de CBD purificado de origen botánico que se describe en el Ejemplo 1.

### 15 *Detección y cuantificación de niveles traza de THC en CBD purificado de origen botánico*

Se utilizó cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC) para identificar los principales cannabinoides y niveles traza de otros cannabinoides. La presencia de los cannabinoides se confirmó mediante comparación cromatográfica de la muestra con el estándar.

20 Se utilizó una columna de sílice con núcleo y cubierta con pH ajustado en un sistema UPLC equipado con un detector de Arreglo de Foto Diodos o UV Sintonizable y un detector de masas QDa.

La Figura 3 demuestra un cromatograma ejemplar producido utilizando el método UPLC para detectar cantidades traza de cannabinoides en la preparación de CBD purificado de origen botánico de la presente invención.

25 Como se puede observar en la Figura 3 hay picos que corresponden a los siguientes cannabinoides: CBD-C1 en un tiempo de retención relativo (RTT) de 1.937 minutos; CBDV en un RTT de 3.481 minutos; CBD-C4 en un RTT de 4.610 minutos; CBD en un RTT de 5.920 minutos; (±)-cis-THC en un RTT de 6.781 minutos y (±)-trans-THC en un RTT de 6.917 minutos.

La concentración de los compuestos presentes en la muestra se puede determinar como % p/p utilizando lo siguiente:

$$\text{Concentración (\%p/p)} = \frac{\text{Área de pico} \times \text{concentración en el estándar (mg/ml)} \times \text{factor de dilución}}{\text{Área en el estándar} \times \text{peso de muestra (mg)}}$$

30

La presencia de cis-THC en la preparación de CBD purificado ejemplar de origen botánico fue sorprendente, ya que se sabe que el THC producido por la planta de THC está en forma de (-)-trans-THC. Como tal, se emprendió la elucidación de la estructura del cis-THC.

### *Elucidación de la estructura del cis-THC*

35 La presencia, aislamiento e identificación de cis-THC fueron determinados a partir de la materia prima botánica producida a partir de una planta alta en CBD y, en consecuencia, se requirió la preparación de CBD purificado de origen botánico resultante como se describe en el Ejemplo 1.

40 El cis-THC fue aislado y purificado con éxito a partir de la sustancia farmacológica botánica canabidiol (CBD) (BDS) mediante cromatografía instantánea y LCMS preparativa. El material aislado fue sometido a pruebas exhaustivas, incluyendo técnicas cromatográficas y espectrales, junto con un estándar sintético cis-THC para identificar el compuesto. También se comparó con su isómero configuracional; trans-THC.

La identidad del cis-THC se confirmó mediante cuatro técnicas espectrales y tres técnicas cromatográficas. Los espectros del material aislado botánicamente fueron comparados con la muestra sintética, lo cual confirmó que la estructura era cis-THC.

45 La identidad del cis-THC de origen botánico fue confirmada mediante las siguientes técnicas:

- Determinación de datos físicos e interpretación de resultados de espectroscopia molecular; incluyendo: 1H-RMN, COSY-RMN, espectrometría de masas y Tiempo de Vuelo Cuadrupolo.

- Comparación de datos físicos y espectrales del cis-THC producido sintéticamente con los del material aislado botánicamente. Esto se confirmó aún más mediante la comparación con la estructura previamente propuesta del cis-THC en la literatura.

5 La figura 4 detalla una traza producida usando el espectrómetro de masas, que confirma la presencia de cis-THC que había sido aislado de material vegetal alto en CBD.

**Ejemplo 3: Cuantificación de la relación de trans-THC a cis-THC presente en preparaciones de CBD purificado de origen botánico**

10 Como se describió en el Ejemplo 1, la producción de una preparación de CBD purificado de origen botánico es un proceso complejo que contiene varios pasos que dan como resultado diferentes tipos de materiales intermedios. En primer lugar, las plantas altas en CBD son cosechadas, secadas y embarazadas para producir materia prima botánica (BRM). El material embalado es transformado en pellas y extraído mediante CO<sub>2</sub> líquido, refinado durante el proceso de descerado y purificado durante el proceso de cristalización. El material de partida BRM CBD contiene una serie de diferentes impurezas cannabinoides presentes junto con el compuesto principal CBD.

15 El presente ejemplo buscó determinar la relación de trans-THC a cis-THC a lo largo del proceso de producción de la preparación de CBD purificado de origen botánico.

El tiempo de retención de trans-THC y cis-THC es diferente utilizando la cromatografía de fase inversa como se muestra en la Figura 5. La polaridad de estos dos compuestos es ligeramente diferente, lo que da como resultado picos de elución cercanos en un método isocrático con resolución de línea base.

20 Se determinó la relación de trans-THC a cis-THC en muestras obtenidas de material en diferentes fases del proceso utilizado para producir la preparación de CBD purificado de origen botánico descrita en el Ejemplo 1.

La relación de trans-THC a cis-THC cambió a lo largo del proceso desde el CBD descarboxilado hasta la preparación de CBD purificado de origen botánico, como se describe en la Tabla 3.1 a continuación.

Tabla 3.1 Relación de trans-THC a cis-THC en el material de CBD durante las etapas de procesamiento

Muestra de CBD	Relación media (trans-THC:cis-THC)	Primer cuartil (trans-THC:cis-THC)	Tercer cuartil (trans-THC:cis-THC)
CBD descarboxilado	3.6:1	3.1:1	3.8:1
CBD extraído con CO <sub>2</sub>	3.3:1	3.0:1	3.6:1
CBD descerado	3.2:1	3.0:1	3.6:1
CBD purificado de origen botánico	0.8:1	0.7:1	1.0:1

25 Como se puede observar en la Tabla 3.1 anterior, la relación de trans-THC a cis-THC cambia durante el procesamiento de la preparación de CBD purificado de origen botánico. La materia prima botánica, una vez descarboxilada, tiene una relación mediana de 3.6:1 (trans-THC:cis-THC), esta relación se hace menor a medida que el material se procesa, teniendo el material extraído con dióxido de carbono líquido una mediana de relación de 3.3:1 (trans-THC:cis-THC) y teniendo el material que había sido refinado mediante el proceso de descerado una mediana de relación de 3.2:1 (trans-THC:cis-THC). Finalmente, el paso de purificación adicional de la cristalización del material CBD utilizando un alcano C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub> de cadena lineal o ramificada produce una mediana de relación de 0.8:1 (trans-THC:cis-THC).

30 La relación de trans-THC a cis-THC en las diferentes etapas de procesamiento también pueden graficada utilizando una curva de correlación de intervalo de Spearman; estas se detallan en la Figura 6. El ajuste de la línea demuestra un cambio en la relación durante el procesamiento y tiene un nivel de confianza muy alto. Esta correlación demuestra el control sobre las etapas de procesamiento de la preparación del CBD purificado de origen botánico, donde se favorece la retención del isómero cis-THC sobre el trans-THC.

40 Como se puede ver, la preparación de CBD purificado de origen botánico comprende tanto trans-THC como cis-THC. La relación de los dos isómeros en la preparación final altamente purificada es de 0.8:1 (trans-THC:cis-THC).

**Ejemplo 4: Cuantificación de la relación de trans-THC a cis-THC presente en preparaciones de CBD crudo**

Para determinar si existían tanto trans-THC como cis-THC en preparaciones crudas de CBD y también, si ambos estaban presentes, cuál era la relación de estos, se realizó un estudio adicional utilizando aceite de CBD comprado a vendedores de aceite de CBD.

Se probaron ocho preparaciones diferentes de aceite de CBD crudo y se encontró que todas comprendían una mezcla de trans-THC y cis-THC. En la Tabla 4.1 a continuación se detallan las relaciones que se encontraron en estos aceites.

Tabla 4.1 Relación de trans-THC a cis-THC en material crudo de CBD

Número de muestra	Relación media (trans-THC:cis-THC)
1	4.4:1
2	2.7:1
3	2.5:1
4	3.2:1
5	2.7:1
6	2.3:1
7	3.6:1
8	2.7:1

Como demuestra la Tabla 4.1, la relación de trans-THC a cis-THC varía dentro de las diferentes preparaciones de aceite de CBD crudo obtenidas de 2,3:1 a 4,4:1 (trans-THC:cis-THC). Estas relaciones están muy alejadas del material CBD purificado de origen botánico definido en la presente invención.

**Ejemplo 5: Cuantificación de la forma estereoisomérica del cis-THC presente en la preparación de CBD purificado de origen botánico**

El Ejemplo 3 demuestra que las preparaciones de CBD purificado de origen botánico comprenden tanto trans-THC como cis-THC en una mediana de relación de 0.8:1 (trans-THC y cis-THC). Como se describió en el Ejemplo 2 y la Figura 2, la molécula de THC tiene 2 estereocentros que permiten la existencia de cuatro estereoisómeros: (+)-trans-THC; (-)-trans-THC; (+)-cis-THC y (-)-cis-THC. El presente ejemplo buscó determinar si el cis-THC estaba presente como el isómero (+)-cis-THC, el isómero (-)-cis-THC o una mezcla de los dos.

Se desarrolló un método quiral que emplea los principios de la cromatografía de fase normal y que podría separar con éxito el (+)-cis-THC y el (-)-cis-THC.

Se utilizó una columna quiral de carbamato de amilosa con una fase móvil que emplea heptano isocrático con un modificador de etanol.

Se aisló una muestra de cis-THC (pura en 98.2%, por HPLC) del CBD purificado de origen botánico y se procesó con el método quiral para evaluar la quiralidad. La traza resultante se muestra en la Figura 7. Como se puede ver en la traza C, hay picos presentes tanto para (-)-cis-THC como para (+)-cis-THC, lo que indica que el cis-THC presente en las preparaciones de CBD purificado de origen botánico está presente como una mezcla de ambos isómeros.

Se calculó que la relación aproximada del (-)-cis-THC al (+)-cis-THC presente era 9:1, como se determina mediante el área bajo la curva. Es probable que existan diversos intervalos de relaciones de (-)-cis-THC a (+)-cis-THC dependiendo de la fuente y el procesamiento del material de CBD.

**Ejemplo 6: Cuantificación de la composición del CBD producido sintéticamente**

Se obtuvieron dos muestras diferentes de CBD producido sintéticamente y se analizaron en un HPLC para comparar la composición del CBD de origen sintético con la del CBD purificado de origen botánico. Ambas preparaciones comprendían más que o igual a 98% (p/p) de CBD.

- 5 Como se puede observar en la Figura 8, existe una diferencia entre el CBD de origen sintético y el CBD purificado de origen botánico. La muestra de CBD purificada de origen botánico tiene picos que corresponden a CBD-C1, CBDV, CBD-C4, trans-THC y cis-THC, mientras que el CBD producido sintéticamente no comprende estos compuestos.

#### **Ejemplo 7: Propiedades de autofluorescencia del CBD purificado de origen botánico y del CBD sintético**

- 10 En este ejemplo se determinaron las propiedades físicas del espectro de emisión y excitación del CBD purificado de origen botánico y del CBD sintético.

##### *Métodos*

##### *Sustancias de prueba*

- 15 Se probó el CBD purificado de origen botánico (BOT) por duplicado en seis concentraciones de 100 mM en 100% de DMSO o 100% de etanol, y a 100  $\mu$ M, 50  $\mu$ M, 1  $\mu$ M, 0.5  $\mu$ M y 0.01  $\mu$ M en una solución de vehículo que contenía PBS + 0.1% de etanol o PBS + 0.1% de DMSO. La concentración de THC en el CBD purificado de origen botánico utilizado fue del 0.03% (p/p) de THC (muestra de referencia).

El CBD sintético (SYN) fue probado por duplicado en cinco concentraciones de 100 mM, 50 mM, 1 mM, 0.5 mM y 0.1 mM, en 100% de Etanol o 100% de DMSO.

##### *Preparación de microplacas*

- 20 Se añadieron 200  $\mu$ L de cada muestra o amortiguador a microplacas por duplicado. La medición se realizó en el lector de placas multimodal Ensign (Perkin Elmer).

##### *Selección de la longitud de onda de excitación*

- 25 Se utilizó un escaneo de excitación para detectar el pico de excitación de cada sustancia de prueba. El escaneo de excitación fue establecido en 230 a 380 nm y por debajo de la longitud de onda de emisión de 400 nm. El escaneo de excitación también fue establecido en 230 a 420 nm y por debajo de la longitud de onda de emisión de 440 nm. En ambos casos, se utilizó un incremento de paso de 2 nm para estos escaneos.

Con base en estos análisis, se determinaron los picos de las longitudes de onda de excitación para las dos longitudes de onda de emisión tentativas y se utilizaron para identificar la/s longitud/es de onda de excitación óptima/s.

- 30 *Selección de la longitud de onda de emisión*

- 35 Para confirmar el pico de emisión de la sustancia de prueba, se realizó un escaneo de emisión utilizando los picos de excitación identificados después del escaneo de excitación. El escaneo de excitación fue establecido para comenzar para el CBD purificado de origen botánico en 50 nm por encima de los valores de excitación tentativos y para el CBD sintético en 20 nm por encima de los valores de excitación tentativos utilizando un incremento de paso de 2 nm. Se escanearon longitudes de onda de hasta 800 nm para emisión.

La longitud de onda que produce la emisión máxima para las muestras se definió como la longitud de onda de emisión óptima para la longitud de onda de excitación elegida.

##### *Presentación de datos*

- 40 Los datos brutos fueron obtenidos del software WorkOut Plus (versión 2.5, Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, EE. UU.). Todos los datos extraídos del software fueron verificados por dos personas para una verificación completa antes del análisis de datos.

Estos datos fueron utilizados para generar los datos en el presente documento presentados, representando en x la longitud de onda (nm) y en y la intensidad de fluorescencia utilizando el software WorkOut Plus (versión 2.5, Perkin Elmer).

- 45 Los datos fueron graficados posteriormente como gráficos XY utilizando GraphPad Prism (versión 8.0.2, La Jolla, EE. UU.).

##### *Resultados*

*Puntos pico de excitación para el CBD purificado de origen botánico y el CBD sintético en DMSO*

## ES 3 000 752 T3

Los espectros de autofluorescencia específicos distintos del perfil DMSO para cada compuesto solo pudieron detectarse en la concentración más alta de 100 mM.

Los datos espectroscópicos representativos de cada compuesto a la concentración de 100 mM se muestran en la Figura 9.

5 Utilizando DMSO puro como vehículo y con una longitud de onda de emisión establecida en 400 o 440 nm, se identificaron puntos pico de excitación para el CBD purificado de origen botánico en 328 o 332 nm; con picos monodispersos de lectura de fluorescencia más alta para el CBD purificado de origen botánico en comparación con el CBD sintético.

10 Utilizando DMSO puro como vehículo y con una longitud de onda de emisión establecida en 400 o 440 nm, aunque se identificaron puntos pico de excitación para CBD sintético en 282 o 328 nm; estos se superponen con los picos de DMSO, lo que sugiere la ausencia de un pico de excitación para este material en estas condiciones.

### *Puntos pico de emisión para CBD purificado de origen botánico y CBD sintético en DMSO*

15 La autofluorescencia específica de cada compuesto sólo pudo detectarse en la concentración más alta de 100 mM. Los datos sugirieron una detección de fluorescencia específica baja similar a la del DMSO, en todas las concentraciones más bajas.

En la Figura 10 se muestran datos espectroscópicos representativos de cada compuesto a la concentración de 100 mM.

20 Utilizando DMSO puro como vehículo y con una longitud de onda de excitación establecida en 326 como se identificó en este estudio o 370 nm de acuerdo con la literatura, se identificaron puntos pico de emisión para el CBD purificado de origen botánico en 398 o 428 nm con un pico monodisperso de lectura de fluorescencia más alta a 326 nm.

25 Utilizando DMSO puro como vehículo y con una longitud de onda de excitación establecida en 328/334/344/284 nm, se identificaron puntos pico de excitación para CBD sintético a 408/498/508/565 nm con un pico monodisperso de lectura de fluorescencia más alta a 565 nm. Como esto se superpone con el pico DMSO, no ha sido incluidos en el espectrograma.

### *Puntos pico de excitación para el CBD purificado de origen botánico y el CBD sintético en etanol*

Los espectros de autofluorescencia específicos distintos del perfil de etanol para cada compuesto solo pudieron detectarse en la concentración más alta de 100 mM.

30 Los datos espectroscópicos representativos de cada compuesto a la concentración de 100 mM se muestran en la Figura 11.

Utilizando etanol puro como vehículo y con una longitud de onda de emisión establecida en 400 nm, se identificaron puntos máximos de excitación para el CBD purificado de origen botánico en 328 nm y el CBD sintético en 280 nm.

35 Utilizando etanol puro como vehículo y con una longitud de onda de emisión establecida en 440 nm, se identificaron puntos máximos de excitación para el CBD purificado de origen botánico en 330 nm y el CBD sintético en 328 nm.

### *Puntos pico de emisión para el CBD purificado de origen botánico y el CBD sintético en etanol*

40 La autofluorescencia específica de cada compuesto sólo pudo detectarse en la concentración más alta de 100 mM. Los datos sugirieron una detección de fluorescencia específica baja similar a la del etanol, en todas las concentraciones más bajas.

Los datos espectroscópicos representativos de cada compuesto a la concentración de 100 mM se muestran en la Figura 12.

45 Utilizando etanol puro como vehículo y con una longitud de onda de excitación establecida en 326 nm como se identificó en este estudio o 370 nm de acuerdo con la literatura, se identificaron puntos pico de emisión para el CBD purificado de origen botánico en 404 nm o 560 nm.

Utilizando etanol puro como vehículo y con una longitud de onda de excitación establecida en 326 y 340 nm, se identificaron puntos máximos de excitación para el CBD sintético entre 412 nm para ambas longitudes de onda.

50 *Conclusión*

Los datos presentados en este ejemplo sugieren que existe una diferencia en las longitudes de onda de excitación y emisión del CBD purificado de origen botánico y el CBD sintético. Como tal, existe una diferencia aparente en las propiedades biofísicas de los dos compuestos.

Conclusión de los datos que demuestran las propiedades fisicoquímicas del cbd purificado de origen botánico

5 Los datos presentados en los Ejemplos 2 a 7 anteriores describen las propiedades fisicoquímicas de la preparación de CBD purificado de origen botánico que se produjo a partir de una planta alta en CBD.

Este CBD purificado de origen botánico comprende mayor que o igual al 98% (p/p) de CBD y menos de que o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides. Los otros cannabinoides presentes son THC en una concentración de menos de o igual a 0.1% (p/p); CBD-C1 en una concentración de menos de o igual a 0.15% (p/p); CBDV en una concentración de menos de o igual a 0.8% (p/p); y CBD-C4 en una concentración de menos de o igual a 0.4% (p/p).

Estos datos demuestran además que tanto el trans-THC como el cis-THC están presentes en el CBD purificado de origen botánico. Además, se ha demostrado que la relación de trans-THC a cis-THC se altera y se puede controlar mediante el proceso de procesamiento y purificación, oscilando entre 3.3:1 (trans-THC:cis-THC) en su estado descarboxilado sin refinar hasta 0.8:1 (trans-THC:cis-THC) cuando está altamente purificado.

Finalmente, estos datos demuestran que el cis-THC que se encuentra en el CBD purificado de origen botánico está presente como una mezcla de las isoformas (+)-cis-THC y (-)-cis-THC.

Cabe destacar que la comparación del CBD purificado de origen botánico difiere mucho en composición de la del CBD sintético. Sin embargo, como lo proporcionan las enseñanzas de esta invención, se podría producir una preparación de CBD sintéticamente, produciendo una composición con componentes duplicados.

DATOS QUE DEMUESTRAN LA EFICACIA TERAPÉUTICA DEL CBD PURIFICADO DE ORIGEN BOTÁNICO

Los siguientes ejemplos describen los datos generados *in vitro* utilizando líneas celulares e *in vivo* utilizando estudios con animales en áreas de enfermedades particulares, que demuestran la eficacia superior de la preparación de CBD purificado de origen botánico sobre la del CBD sintético de la misma concentración y pureza.

La pureza de la preparación de CBD purificado de origen botánico utilizada en estos experimentos fue mayor que o igual al 98%. La preparación de CBD incluía menos o igual al 2% de otros cannabinoides, incluyendo THC, CBDV, CBD-C1 y CBD-C4. El THC estaba presente en una concentración de menos de o igual a 0.1% (p/p); el CBD-C1 en una concentración de menos de o igual a 0.15% (p/p); el CBDV en una concentración de menos de o igual a 0.8% (p/p); y el CBD-C4 en una concentración de menos de o igual a 0.4% (p/p).

El THC está presente como trans-THC y cis-THC en la preparación de CBD purificado de origen botánico utilizada en los siguientes ejemplos. La relación de trans-THC a cis-THC fue de aproximadamente 0.8:1 (trans-THC:cis-THC). El cis-THC estaba presente como una mezcla, estando presentes las isoformas (+)-cis-THC y (-)-cis-THC presentes.

35 **Ejemplo 8: Estudio *in vitro* sobre la elasticidad neural y el desarrollo del cono de crecimiento.**

Este ejemplo demuestra que ciertas concentraciones de CBD purificado de origen botánico son capaces de inducir la diferenciación celular y el crecimiento de neuritas.

Se realizaron estudios para identificar los efectos del CBD purificado de origen botánico y del CBD sintético en células (hNSC) madre/progenitoras neurales corticales cerebrales derivadas de iPSC humanas *in vitro*.

40 *Métodos*

*Cultivo de células (hNSCs) madre neurales corticales cerebrales derivadas de iPSC humanas*

Las células (hNSCs) madre neurales corticales cerebrales derivadas de iPSC humanas (Axol Bioscience Inc., Reino Unido) fueron cultivadas como monocapas a una densidad de  $1.0 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> en placas Petri de 100 mm de diámetro. Las células fueron recogidas de su criovial original, suspendidas en Medio Plating-XF y sembradas en placas de Petri recubiertas con solución de trabajo SureBondXF 1X preparada en D-PBS (sin calcio ni magnesio). Las hNSCs fueron incubadas a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub> y 24 horas después de la incubación, el Medio de siembra fue reemplazado con Medio Neural Expansion-XF fresco suplementado con los factores de crecimiento Recombinant Human EGF y Recombinant Human FGF2 (concentración final de 20 ng/mL (1X) de FGF2 y EGF). Los cultivos fueron alimentados de nuevo con Neural Expansion-XF fresco suplementado con EGF y FGF2 cada dos días. Cuando las hNSCs alcanzaron aproximadamente el 80% de confluencia, fueron preparadas para el tratamiento. Se utilizó Axol Unlock-XF precalentado para separar las células y después de 3 minutos de incubación, las células fueron suspendidas de nuevo en Medio Neural Expansion-XF suplementado con EGF y FGF2. Las células ( $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>) fueron sembradas a continuación en placas

de Petri recubiertas con SureBondXF 1X y después de 2 horas el medio fue reemplazado con Neural Expansion-XF fresco suplementado con EGF y FGF2.

*Tratamiento de células con cannabinoides de prueba*

5 Las hNSCs cultivadas como se describió anteriormente se sembraron a una densidad de  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> sobre cubreobjetos recubiertos con SureBondXF en presencia de CBD purificado de origen botánico; CBD sintético; o vehículo diluido en el Medio Neural Differentiation-XF (DM, sin factores de crecimiento) durante 3-5 días a 37°C en una solución de CO<sub>2</sub> al 5%/95% de atmósfera de aire.

Los cannabinoides se disolvieron en etanol al 95% (v/v) y se agregaron al medio para obtener concentraciones finales de 0.1 o 1 µM de CBD.

10 Se añadió etanol a las células tratadas con el vehículo durante todo el período de diferenciación de 3 a 5 días, en donde la concentración final nunca fue superior al 0.05% (v/v).

*Inmunohistoquímica*

15 Para realizar la inmunohistoquímica, las células fueron fijadas con paraformaldehído al 4% (p/v). La unión no específica fue bloqueada con 10% (v/v) de suero bovino fetal y 0.1% (v/v) de Triton X-100 y se incubó con anticuerpos primarios: anti-Map2ab de ratón (Sigma-Aldrich; 1:200) y anti-GFAP de conejo (DAKO; 1:200) o anti-Gap43 de conejo (Synaptic System; 1:300 a temperatura ambiente durante 4 horas. Se utilizaron anticuerpos secundarios anti-ratón Alexa594 (Life Technologies; 1:100) y anti-conejo Alexa488 (Life Technologies; 1:100) para la inmunofluorescencia. Luego, las células se contratiñeron con DAPI, se lavaron con PBS y se cubrieron con medio de montaje Aquatex (Merck, Darmstadt, Alemania). La inmunofluorescencia  
20 fue estudiada con un microscopio de epifluorescencia (Leica AF6000) equipado con el filtro apropiado y luego se adquirió utilizando una cámara digital (Leica, DFC 340) conectada al microscopio y un software de análisis de imágenes (Leica, LAS AF). No se encontró inmunorreactividad en las muestras procesadas para el control de especificidad de cada anticuerpo primario utilizado en el estudio, lo cual fue realizado omitiendo el anticuerpo primario antes de agregar el anticuerpo secundario apropiado.

25 *Recopilación de datos y análisis estadístico*

Para el recuento de células Map2ab+DAPI+ se utilizó el software Digital Leica LAS AF 2.2.0 (sistema Live Data Mode). Las imágenes se adquirieron con un microscopio Leica DMI6000 equipado con filtros azul (DAPI) y rojo (MAP2) apropiados para contar células diferenciadas como violeta (fusión de DAPI, azul, y MAP2, rojo) y hNSCs como azul (solo DAPI). Para cada condición experimental, se analizaron en cada caso por triplicado  
30 células de 3 tubos diferentes y se recogieron 3 fotogramas con una magnificación de 20x. Los datos se analizaron con el software GraphPad Prism 6, versión 6.05 (GraphPad, Inc.) y se expresan como media ± SEM. Las diferencias estadísticas entre los grupos se determinaron mediante ANOVA de dos vías seguido de pruebas de Bonferroni post hoc para la comparación entre medias. Se utilizó un nivel de confianza de P<0.05 para la significancia estadística.

35 *Resultados*

*Efecto del CBD purificado de origen botánico y del CBD sintético sobre la neurogénesis y la diferenciación neuronal de hNSCs*

40 Se probaron dos preparaciones de CBD purificado de origen botánico diferentes en células (hNSCs) madre neurales humanas cultivadas. El lote 1 comprendía aproximadamente 0.1% (p/p) de THC y el lote 2 (lote de referencia) contenía 0.02% de THC (p/p). Se utilizaron dosis de 0.1 y 1 µM tanto con CBD purificado de origen botánico como con CBD sintético.

Como se muestra en la Tabla 8.1 a continuación, ambos lotes de CBD purificado de origen botánico indujeron un aumento significativo en la neurogénesis y la diferenciación neuronal de las hNSCs, esto se indica por un mayor número de células MAP2-MAP2+ después de la incubación con CBD durante 3 o 5 días.

45 Tabla 8.1: Porcentaje de células MAP2+ después de 3 y 5 días de incubación

Muestra	% medio de células MAP2+ (3 días)	% medio de células MAP2+ (5 días)
Vehículo	4.59 ± 0.3	5.77 ± 0.23
CBD purificado de origen botánico (lote 1) 0.1µM	7.06 ± 0.11 ***	20.38 ± 0.86 ***

Muestra	% medio de células MAP2+ (3 días)	% medio de células MAP2+ (5 días)
CBD purificado de origen botánico (lote 1) 1µM	28.29 ± 1.7 ***	38.38 ± 1 ***
CBD purificado de origen botánico (lote 2) 0.1µM	6.71 ± 0.91 ***	18.83 ± 1.22 ***
CBD purificado de origen botánico (lote 2) 1µM	20.04 ± 1.37 ***	33.74 ± 1.83 ***
CBD sintético 0.1µM	4.87 ± 0.1	6.02 ± 0.3
CBD sintético 1µM	6.11 ± 0.3	7.09 ± 0.1

\*\*\* P<0.0001 frente a células tratadas con vehículo. Análisis de varianza (ANOVA) de dos vías seguido de la prueba de Bonferroni post-hoc para comparación por pares

5 Se encontró que el CBD purificado de origen botánico a una concentración de 1µM era más potente que la concentración de 0.1µM para ambos lotes y en ambos puntos de tiempo (3 días y 5 días de tratamiento). De manera interesante, las mismas concentraciones de CBD sintético no tuvieron un efecto significativo sobre la neurogénesis o la diferenciación neuronal en relación con las células tratadas con el vehículo.

*Efecto del CBD purificado de origen botánico y del CBD sintético sobre el crecimiento axonal y la diferenciación neuronal de hNSCs*

10 Este estudio implicó examinar el efecto de los dos compuestos de prueba sobre la diferenciación neuronal de hNSCs después de 3 o 5 días de tratamiento utilizando inmunocitoquímica GAP43. Como se muestra en la Tabla 8.2 a continuación, después de 3 y 5 días de tratamiento con CBD purificado de origen botánico, la neurogénesis aumentó significativamente al mejorar la elongación de las neuritas, como lo confirmó la expresión de GAP43 en la gran mayoría de las células.

Tabla 8.2: Porcentaje de células GAP43+ después de 3 y 5 días de incubación

Muestra	Porcentaje medio de células GAP43 (3 días)	Porcentaje medio de células GAP43 (5 días)
Sin tratamiento	5.96 ± 1.05	7.08 ± 1.5
CBD purificado de origen botánico 1µM	26.39 ± 3.40	37.32 ± 0.9
CBD sintético 1µM	8.40 ± 2.0	9.15 ± 1.6

### 15 *Conclusión*

Juntos, estos estudios indican que el CBD purificado de origen botánico, que comprende menos de o igual al 2% de otros cannabinoides, incluyendo THC, CBD-C1, CBDV y CBD-C4, son capaces de inducir diferenciación y crecimiento de neuritas.

20 De manera notable, el CBD sintético (que no contiene estos otros cannabinoides) parece no tener ningún efecto sobre neurogénesis y diferenciación de las hNSCs cuando se suministra en la misma concentración que el CBD purificado de origen botánico.

El efecto mostrado por el CBD purificado de origen botánico sobre neurogénesis y crecimiento de neuritas podría ser importante para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas o lesiones cerebrales.

### 25 **Ejemplo 9: Comparación del CBD purificado de origen botánico y el CBD sintético en un modelo de epilepsia en ratones**

Este ejemplo demuestra el efecto del CBD purificado de origen botánico y del CBD sintético en ratones en una prueba de convulsión por electrochoque máximo.

#### Métodos

##### Animales y condiciones experimentales

5 Este estudio fue realizado utilizando ratones macho C57Bl6, con un peso entre 23.6-31.2 g, que fueron comprados a un criador autorizado (Charles River, Reino Unido). Los ratones primitivos se aclimataron a la sala de procedimientos en sus jaulas de origen, con comida y agua disponibles *ad libitum*. Los animales fueron alojados en grupos de 2-3, en jaulas estándar con un ciclo de luz-oscuridad de 12 hr/12 hr. A todos los animales se les marcó la cola y se les pesó al comienzo del estudio. Los animales fueron asignados aleatoriamente a  
10 grupos de vehículo o de tratamiento.

##### Fármacos antiepilépticos (AED)

En este estudio se utilizaron los siguientes fármacos: CBD sintético (SYN) y CBD purificado de origen botánico (BOT). El vehículo de control utilizado fue (1:1:18), que contenía 5% de Etanol, 5% de Kolliphor y 90% de solución salina, y se ha utilizado ampliamente en pruebas de convulsiones similares. Todos los fármacos fueron disueltos en el vehículo de control para su comparación. A los animales se les administró una dosis (10 ml/kg) i.p. 60 minutos antes de la administración de la prueba de convulsión por electrochoque máximo (MES). Además del grupo del vehículo, los grupos de dosificación utilizados para cada tratamiento incluyeron dosis de 10, 50, 100 (solo Experimento 1), 150 y 200 mg/kg para CBD (SYN) y CBD (BOT). El número de animales en cada uno de estos grupos fue 10 (n=10).

20 Se realizaron dos experimentos separados utilizando dos lotes diferentes de CBD purificado de origen botánico. En el primer experimento (de referencia), la concentración de THC en el CBD purificado de origen botánico fue del 0.02% de THC (p/p), mientras que en el segundo experimento la concentración de THC en el CBD purificado de origen botánico fue de aproximadamente el 0.1% de THC (p/p).

##### Prueba de convulsión por electrochoque máximo (MES)

25 Se evaluó la actividad protectora del CBD (SYN) y del CBD (BOT) y se expresó como dosis eficaces (ED<sub>50</sub> en mg/kg), que protege al 50% de los ratones contra las convulsiones tónicas inducidas por MES. Las electroconvulsiones se produjeron mediante una intensidad de corriente fija de 30 mA y un electrochoque aplicado de modo corneal (duración de 0.2 segundos). Los ratones fueron evaluados individualmente para detectar convulsiones después de este electrochoque aplicado de modo corneal de alto nivel predeterminado  
30 (30mA), de intensidad suficiente para producir de manera confiable convulsiones tónicas de extensión de las extremidades traseras en el 100% de los animales de control. La inducción de convulsiones se midió como un efecto de todo o nada calificado como presente (+) o ausente (0) para cada animal. Los datos fueron recogidos por un observador que desconocía el tratamiento de cada animal y se expresaron como el número total de +s y 0s para cada grupo de tratamiento. Luego se generó el porcentaje de inhibición del grupo tratado con el  
35 vehículo relevante (el grado de protección relativo a los controles tratados con el vehículo).

##### Análisis estadístico

Todas las pruebas estadísticas se realizaron utilizando el GraphPad Prism versión 7.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA) disponible comercialmente. Las dosis eficaces (ED<sub>50</sub> en mg/kg), que protegen al 50% de los ratones contra convulsiones tónicas inducidas por MES para CBD (SYN) y CBD (BOT) se calcularon en Prism utilizando análisis de respuesta a dosis Sigmoidal - pendiente variable y análisis log-probit. Se compararon los valores ED<sub>50</sub> de CBD (SYN y CBD) utilizando la aproximación de prueba t para comparar los dos mejores valores de mejor ajuste de un experimento para evaluar estadísticamente la significancia de las diferencias entre estos.

##### Resultados

45 Los efectos anticonvulsivos mostrados por dosis dadas de CBD (SYN) y CBD (BOT 0.02% de THC) fueron analizados mediante análisis de curva sigmoideal como se muestra en la Figura 13. Los valores ED<sub>50</sub> se derivaron de estas curvas sigmoideales como CBD (SYN): 77.63 mg/kg y CBD (BOT 0.02% de THC): 70.22 mg/kg.

50 Estos valores ED<sub>50</sub> fueron comparados estadísticamente utilizando la aproximación de prueba t para los dos mejores valores de mejor ajuste de un experimento. Como resultado, se determinó estadísticamente que estos valores ED<sub>50</sub> eran diferentes como se muestra en la Tabla 9.1 a continuación (p = 0.0013).

Las dosis para ratones fueron convertidas a dosis humana equivalente (HED) de 10 mg/kg, asumiendo un humano de 60 kg, y la diferencia en HED usando CBD (BOT 0.02% de THC) sobre CBD (SYN) es del 10.00%.

Tabla 9.1: Experimento 1 de referencia - Análisis de la aproximación de prueba t para comparar la ED<sub>50</sub> de CBD (SYN) frente a CBD (BOT 0.02% de THC) y posterior conversión de dosis a dosis humana equivalente (HED)

Análisis	CBD (SYN) ED <sub>50</sub> (mg/kg)	CBD (BOT) ED <sub>50</sub> (mg/kg)	Prueba t (valor p)	CBD (SYN) HED - mg	CBD (BOT) HED - mg	Dif. en HED (%)
Curva sigmoideal - parte superior constante	77.60	70.20	0.0013	600.0	542.8	10.0

5 Los efectos anticonvulsivos mostrados por dosis dadas de CBD (SYN) y CBD (BOT 0.02% de THC) fueron analizados mediante análisis de curva sigmoideal como se muestra en la Figura 14. Los valores ED<sub>50</sub> se derivaron de estas curvas sigmoideales como CBD (SYN): 77.40 mg/kg y CBD (BOT 0.1% de THC): 57.94 mg/kg.

Estos valores ED<sub>50</sub> fueron comparados estadísticamente utilizando la aproximación de prueba t para los dos mejores valores con mejor ajuste de un experimento. Como resultado, se determinó que estos valores ED<sub>50</sub> eran como estadísticamente diferentes como se describe en la Tabla 9.2 (p = 0.0000015).

10 Las dosis para ratones se han convertido a dosis humanas equivalentes (HED) de 10 mg/kg, asumiendo un humano de 60 kg, y la diferencia en HED usando CBD (BOT 0.08% de THC) sobre CBD (SYN) es del 28.75%.

Tabla 9.2: Experimento 2 - Análisis del enfoque de prueba t para comparar la ED<sub>50</sub> de CBD (SYN) frente a CBD (BOT aprox. 0.1% de THC) y posterior conversión de dosis a dosis humana equivalente (HED)

Análisis	CBD (SYN) ED <sub>50</sub> (mg/kg)	CBD (BOT) ED <sub>50</sub> (mg/kg)	Prueba t (valor p)	CBD (SYN) HED - mg	CBD (BOT) HED - mg	Dif. en HED (%)
Curva sigmoideal - parte superior constante	77.40	57.94	0.0000015	600.0	449.15	28.75

15

### Conclusión

Los datos generados en este estudio indican que el tratamiento con CBD purificado de origen botánico es más eficaz que el tratamiento con CBD sintético en el modelo de electrochoque máximo de la epilepsia.

20 Tales datos son significativos en la medida en que demuestran que tal composición de CBD puede ser útil en el tratamiento de la epilepsia.

### Ejemplo 10: Comparación de CBD purificado de origen botánico y CBD sintético en un modelo animal de esquizofrenia

25 El efecto del PCP en la prueba de reconocimiento (NOR) de objetos nuevos es un modelo de déficits de memoria de reconocimiento visual similar a los observados en la esquizofrenia. Los antipsicóticos atípicos, clozapina y risperidona, pueden atenuar el déficit. El estudio fue diseñado para determinar si el CBD purificado de origen botánico y/o el CBD sintético podrían atenuar los déficits en el reconocimiento de objetos nuevos causados por la administración de PCP.

### Métodos

30 Para este experimento se utilizaron ratas Hooded Lister hembras. Las ratas se alojaron en grupos de 5 en condiciones de laboratorio estándar bajo un ciclo de luz: oscuridad de 12 horas, con las luces encendidas a las 0700 horas. La prueba fue realizada en la fase de luz. Las ratas fueron asignadas aleatoriamente a dos grupos de tratamiento y tratadas con vehículo, n = 20 (agua destilada, i.p.) o clorhidrato de Fenciclidina (PCP), n = 100 (2 mg/kg, i.p. dos veces al día durante 7 días). El PCP se disolvió en agua destilada. A esto le siguió un período de lavado de 7 días antes de que las ratas fueran evaluadas después del tratamiento agudo con CBD, risperidona o vehículo.

35

Se disolvió risperidona (0.1 mg/kg) en un volumen mínimo de ácido acético, se completó el volumen con agua destilada y se ajustó el pH a 6 con NaOH 0.1 M y se administró por ruta i.p. en un volumen de 1 ml/kg, 120 minutos antes de la prueba.

5 El CBD purificado de origen botánico fue probado a 2, 10, 20 o 100 mg/kg y se disolvió en 2:1:17 (Etanol:Cremofor:Solución salina al 0.9%) y se administró por la ruta i.p. en un volumen de 5 ml/kg, 60 minutos antes de la prueba. La concentración de THC en el CBD purificado de origen botánico fue del 0.03% (p/p) de THC (muestra de referencia).

El CBD sintético a 1, 2, 5, 10 o 20 mg/kg se disolvió en 2:1:17 (Etanol:Cremofor:Solución salina 0.9%) y se administró por la ruta i.p. en un volumen de 5 ml/kg, 120 minutos antes de la prueba.

10 Se permitió que las ratas se acostumbraran a la caja de prueba vacía y al ambiente de la sala de pruebas de comportamiento durante una hora el día 1. Antes de la prueba de comportamiento del día 2, las ratas recibieron 3 minutos más de habituación.

15 Después del período de habituación de 3 minutos, las ratas recibieron dos pruebas de 3 minutos (T1 y T2) que fueron separadas por un intervalo entre pruebas de 1 minuto en la jaula de origen, durante el cual se cambiaron los objetos. El comportamiento en todos los ensayos fue registrado en vídeo para su posterior puntuación a ciegas.

20 En la prueba (T1) de adquisición, a los animales se les permitió explorar dos objetos (A1 y A2) idénticos durante 3 minutos. En la prueba (T2) de retención, a los animales se les permitió explorar un objeto (A) familiar de T1 y un objeto (B) nuevo durante 3 minutos. El objeto familiar presentado durante T2 era un duplicado de los objetos presentados en T1 para evitar cualquier rastro olfativo.

25 Se definió la exploración de objetos como que los animales lamieran, olieran o tocaran un objeto con las patas delanteras mientras lo olían, pero la exploración de objetos no incluía que el animal se apoyara, girara, se parara o se sentara sobre un objeto. El(los) tiempo(s) de exploración de cada objeto (A, B, familiar y nuevo) en cada prueba fueron registrados utilizando dos cronómetros y se calcularon los siguientes factores: tiempo total de exploración de ambos objetos en la prueba de adquisición, tiempo total de exploración de ambos objetos en la prueba de retención. La habituación a la actividad exploratoria incluyó el tiempo de exploración, medido por el número de líneas cruzadas, para ambos ensayos.

30 Todos los datos fueron evaluados respecto a su normalidad utilizando la prueba de normalidad de D'Agostino y Pearson. Los datos no distribuidos de manera normal fueron analizados utilizando Kruskal-Wallis seguido de comparaciones planificadas con la corrección de Dunn. Los datos distribuidos de manera normal fueron analizados utilizando ANOVA de una vía seguido de comparaciones planificadas con la corrección de Sidak. Todos los análisis fueron llevados a cabo utilizando GraphPad Prism V7.03.

### Resultados

35 Como se muestra en la Figura 15, el CBD purificado de origen botánico (2-100 mg/kg i.p., 120 min ppt) atenuó un déficit subcrónico inducido por PCP en el reconocimiento de objetos nuevos en ratas (n = 9-10 por grupo), con una dosis mínima eficaz (MED) de 2 mg/kg, ( $p < 0.05$ ).

Como se muestra en la Figura 16, el CBD sintético (2-100 mg/kg i.p., 120 min ppt) atenuó un déficit subcrónico inducido por PCP en el reconocimiento de objetos nuevos en la rata (n = 8-10 por grupo), con una dosis mínima eficaz (MED) de 10 mg/kg ( $p < 0.01$ ).

40 De manera interesante, la diferencia de potencia (dosis mínima eficaz) entre el CBD sintético y el CBD purificado de origen botánico significa que en un ser humano de 70 kg que recibe una dosis de 20 mg/kg/día de CBD hay una diferencia significativa en la cantidad de CBD necesaria. Como se muestra a continuación:

Dosis en ratas de 2mg/kg/día =  $(2 \times 0.16) = 0.32$  mg/kg/día en un humano =  $(0.32 \times 70) = 22.4$  mg/día para CBD altamente purificado de origen botánico.

45 Dosis para ratas de 10mg/kg/día =  $(10 \times 0.16) = 1.6$  mg/kg/día en un humano =  $(1.6 \times 70) = 112$  mg/día para CBD sintético

Los cálculos se basan en la guía de conversión de dosis de FDA de animales a humanos (para convertir una dosis de mg/kg en una rata a una dosis equivalente en mg/kg en humanos, la dosis de la rata se multiplica por 0.16).

### 50 Conclusión

Se ha mostrado que el CBD purificado de origen botánico es útil para atenuar el déficit subcrónico inducido por PCP en el reconocimiento de objetos nuevos en ratas a una dosis mínima eficaz (MED) mucho más baja que

el CBD sintético, lo que sugiere que sería una opción de tratamiento útil en la esquizofrenia y afecciones asociadas.

5 Dada la diferencia de potencia, el uso de CBD sintético en un ser humano requeriría cinco veces la cantidad de CBD que el CBD purificado de origen botánico. Esta diferencia de potencia es importante dado que el CBD es un compuesto de producción costosa, ya sea a partir de una ruta sintética o botánica.

**Ejemplo 11 de referencia: Comparación de altas concentraciones de THC en combinación con CBD purificado de origen botánico en un modelo animal de esquizofrenia**

10 La prueba de reconocimiento (NOR) de objetos nuevos descrita en el Ejemplo 9 anterior es un modelo de déficits de memoria de reconocimiento visual similar a los observados en la esquizofrenia. El estudio fue diseñado para determinar si concentraciones más altas de THC, como las que se encuentran comúnmente en las preparaciones de aceite de CBD vernáculo, afectarían la capacidad del CBD purificado derivado botánicamente para atenuar los déficits en el reconocimiento de objetos nuevos causados por la administración de PCP en ratas.

Las preparaciones de CBD vernáculo comprenden típicamente entre 3 y 20% (p/p) de THC.

15 *Métodos*

En este experimento se empleó el mismo método que se describe en el Ejemplo 10 anterior.

Se probó CBD purificado de origen botánico a 20 mg/kg con una adición de 10% (p/p) o 20% (p/p) de THC agregado al CBD. El CBD purificado de origen botánico que comprendía un 0.08% de THC fue llevado hasta 10% de THC y 20% de THC con THC purificado de origen botánico.

20 Los cannabinoides se disolvieron en 2:1:17 (Etanol:Cremofor:Solución salina al 0.9%) y se administraron por ruta i.p. en un volumen de 5 ml/kg, 120 minutos antes de la prueba.

La prueba de comportamiento fue realizada como se describió en el Ejemplo 10 anterior.

25 Todos los datos fueron evaluados respecto a la normalidad utilizando la prueba de normalidad de D'Agostino y Pearson. Los datos no distribuidos de manera normal fueron analizados utilizando Kruskal-Wallis seguido de comparaciones planificadas con la corrección de Dunn. Los datos distribuidos de manera normal fueron analizados utilizando ANOVA de una vía, seguido de comparaciones planificadas con la corrección de Sidak. Todos los análisis fueron llevados a cabo utilizando GraphPad Prism V7.03.

*Resultados*

30 Se encontró que los animales tratados con el CBD purificado de origen botánico que comprendía 20% (p/p) de THC estaban sedados y, como tal, no se generaron datos respecto al reconocimiento de objetos nuevos para este grupo.

También se encontró que algunos de los animales tratados con el CBD purificado de origen botánico que comprendía 10% (p/p) de THC estaban sedados y, como tal, solo se generaron datos con cinco de los 15 animales de prueba para este grupo.

35 Como se puede observar en las Figuras 17 a 19, los animales tratados con CBD purificado de origen botánico a 20mg/kg fueron capaces de atenuar el déficit subcrónico inducido por PCP en el reconocimiento de objetos nuevos. De manera interesante, se observó que este efecto se eliminó en animales que fueron tratados con CBD purificado de origen botánico que comprendía un 10% (p/p) de THC.

40 La figura 17 demuestra que el CBD purificado de origen botánico (20 mg/kg i.p., 120 min ppt) atenuó un déficit subcrónico inducido por PCP en el reconocimiento de objetos nuevos en ratas (n = 15 por grupo), (p= <0.001). Mientras que en el grupo al que se administró CBD (20 mg/kg) más THC (1.984 mg/kg, i.p., 120 min ppt) este efecto se perdió (n=5). Ocurrieron efectos similares a los observados en las ratas PCP tratadas con vehículo.

45 La figura 18 detalla el índice de discriminación (DI) en ratas tratadas con CBD purificado de origen botánico suplementado con THC al 10 y 20% (p/p). Las ratas tratadas con CBD purificado de origen botánico (20 mg/kg i.p., 120 min ppt) tuvieron un DI similar a la de las ratas no tratadas con PCP (n = 15 por grupo), (p=<0.01). Mientras que en el grupo al que se le administró CBD (20 mg/kg) más THC (1.984 mg/kg, i.p., 120 min ppt) este efecto se perdió (n=5).

50 La Figura 19 detalla el número de cruces de líneas en ratas tratadas con CBD purificado de origen botánico suplementado con THC al 10 y 20% (p/p). Las ratas tratadas con CBD (20 mg/kg) más THC (1.984 mg/kg, i.p., 120 min ppt) tuvieron un número reducido de cruces de línea (n=5).

*Conclusión*

Como tal, parecería que una pequeña concentración de THC como la que se encuentra en el CBD purificado de origen botánico, es eficaz; sin embargo, el aumento de la concentración de THC a los niveles que se encuentran en las preparaciones de CBD vernáculo es perjudicial para el déficit cognitivo y social.

5 CONCLUSIÓN DE LOS DATOS QUE DEMUESTRAN LA EFICACIA TERAPÉUTICA DEL CBD PURIFICADO DE ORIGEN BOTÁNICO

Los datos presentados en los Ejemplos 8 a 11 anteriores describen las propiedades farmacológicas de la preparación de CBD purificado de origen botánico que se produjo a partir de una planta alta en CBD, en comparación con el CBD sintético.

10 Como hemos determinado en los Ejemplos 2 a 7, el CBD purificado de origen botánico utilizado en estos experimentos tiene una composición precisa que difiere de la del CBD sintético, aunque las dos composiciones tienen la misma concentración de CBD.

Estos datos demuestran en tres modelos diferentes que el CBD purificado de origen botánico es más eficaz que el CBD sintético. Estos datos son sorprendentes dado que la diferencia en la composición entre los dos tipos de CBD probados radica únicamente en lo que pueden considerarse impurezas.

15 Estos datos son importantes en muchos aspectos. En primer lugar, al tratar a un paciente con una enfermedad o afección, el médico desea asegurar el tratamiento más eficaz posible. Estos datos muestran que el CBD purificado de origen botánico es más eficaz que el CBD sintético y, como tal, es una opción de tratamiento más valiosa, particularmente en pacientes que padecen afecciones difíciles de tratar, como muchos de los síndromes de epilepsia, como el síndrome de Dravet o el síndrome de Lennox-Gastaut.

20 En segundo lugar, los hallazgos de estos experimentos han demostrado que el CBD purificado de origen botánico es eficaz en una dosis mínima eficaz más baja que el CBD sintético. Como tal, al administrar el CBD purificado de origen botánico, se puede proporcionar una cantidad menor de la composición. Esto tiene muchos beneficios, incluyendo un menor costo de los productos, efectos secundarios asociados potencialmente menores y cumplimiento del paciente.

25 Además, estos datos también demuestran que el uso de una fuente de CBD sin refinar, como la que se encuentra con los minoristas de aceite de CBD, no produce los mismos beneficios eficaces que se observan con el CBD purificado de origen botánico. Los efectos perjudiciales mostrados sobre la cognición cuando la cantidad de THC en el CBD se incrementó a niveles vernáculos sugieren que dichas composiciones no serían adecuadas para el tratamiento de muchas enfermedades y afecciones.

30 En resumen, la composición precisa de los componentes dentro del CBD purificado de origen botánico es de gran beneficio. Tal composición puede ser reproducida utilizando CBD de origen botánico o componentes producidos sintéticamente.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una preparación de canabidiol (CBD) caracterizada porque comprende mayor que o igual a 98% (p/p) de CBD y menos de o igual al 2% (p/p) de otros cannabinoides, en donde el menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides comprende los cannabinoides tetrahidrocanabinol (THC); canabidiol-C1 (CBD-C1); canabidivarina (CBDV); y canabidiol-C4 (CBD-C4), y en donde el THC está presente como una mezcla de trans-THC y cis-THC, y en donde la preparación de CBD comprende al menos aproximadamente 0.1% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.
- 10 2. Una preparación de canabidiol (CBD) caracterizada porque comprende mayor que o igual a 98% (p/p) de CBD y menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides, en donde el menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides comprende los cannabinoides tetrahidrocanabinol (THC); canabidiol-C1 (CBD-C1); canabidivarina (CBDV); y canabidiol-C4 (CBD-C4), y en donde el THC está presente como una mezcla de trans-THC y cis-THC, y en donde la preparación de CBD comprende al menos aproximadamente 0.1% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación, para su uso como medicamento.
- 15 3. Una preparación de canabidiol (CBD) caracterizada porque comprende mayor que o igual a 98% (p/p) de CBD y menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides, en donde el menos de o igual a 2% (p/p) de otros cannabinoides comprende los cannabinoides tetrahidrocanabinol (THC); canabidiol-C1 (CBD-C1); canabidivarina (CBDV); y canabidiol-C4 (CBD-C4), y en donde el THC está presente como una mezcla de trans-THC y cis-THC, y en donde la preparación de CBD comprende al menos aproximadamente 0.1% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación, para su uso en el tratamiento de enfermedades y  
20 afecciones del neurodesarrollo.
- 25 4. Una preparación de canabidiol (CBD) caracterizada porque comprende mayor que o igual a 98% (p/p) de CBD y menos de o igual al 2% (p/p) de otros cannabinoides, en donde el menos de o igual al 2% (p/p) de otros cannabinoides comprende los cannabinoides tetrahidrocanabinol (THC); canabidiol-C1 (CBD-C1); canabidivarina (CBDV); y canabidiol-C4 (CBD-C4), y en donde el THC está presente como una mezcla de trans-THC y cis-THC, y en donde la preparación de CBD comprende al menos aproximadamente 0.1% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación, para su uso en el tratamiento de la epilepsia.
- 30 5. Una preparación de canabidiol (CBD) caracterizada porque comprende mayor que o igual a 98% (p/p) de CBD y menos de o igual al 2% (p/p) de otros cannabinoides, en donde el menos de o igual al 2% (p/p) de otros cannabinoides comprende los cannabinoides tetrahidrocanabinol (THC); canabidiol-C1 (CBD-C1); canabidivarina (CBDV); y canabidiol-C4 (CBD-C4), y en donde el THC está presente como una mezcla de trans-THC y cis-THC, y en donde la preparación de CBD comprende al menos aproximadamente 0.1% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación, para su uso en el tratamiento de la esquizofrenia.
- 35 6. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la preparación comprende no más de 1.5% (p/p) de THC sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.
- 40 7. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la mezcla de trans-THC y cis-THC está presente en una relación de aproximadamente 3.6:1 de trans-THC:cis-THC.
- 45 8. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la mezcla de trans-THC y cis-THC está presente en una relación de aproximadamente 0.8:1 de trans-THC:cis-THC.
- 50 9. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la preparación comprende aproximadamente 0.1% a aproximadamente 0.15% (p/p) de CBD-C1 sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.
10. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la preparación comprende aproximadamente 0.2% a aproximadamente 0.8% (p/p) de CBDV sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.
11. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la preparación comprende aproximadamente 0.3% a aproximadamente 0.4% (p/p) de CBD-C4 sobre la base de la cantidad total de canabinoide en la preparación.
12. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde al menos una porción de al menos uno de los cannabinoides presentes en la preparación de CBD es aislado del material de la planta de cannabis.

13. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde sustancialmente todos o al menos uno de los cannabinoides presentes en la preparación de CBD es aislado del material de la planta de cannabis.
- 5 14. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde sustancialmente todos los cannabinoides presentes en la preparación de CBD son aislados del material de la planta de cannabis.
15. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en donde el material de la planta de cannabis es de una planta de *Cannabis sativa*, *Cannabis indica*, o *Cannabis ruderalis*.
- 10 16. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en donde la planta de cannabis es un quimiotipo de cannabis con alto contenido de CBD.
17. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde al menos una porción de al menos uno de los cannabinoides presentes en la preparación de CBD es preparado sintéticamente.
- 15 18. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde sustancialmente todos o al menos uno de los cannabinoides presentes en la preparación de CBD se prepara sintéticamente.
19. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en la reivindicación 18, en donde sustancialmente todos los cannabinoides presentes en la preparación de CBD se preparan sintéticamente.
- 20 20. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en la reivindicación 3, en donde la enfermedad o trastorno neurodegenerativo es enfermedad de Alzheimer; enfermedad de Parkinson; temblor esencial; esclerosis lateral amiotrófica (ALS); enfermedad de Huntington; ataxia de Friedreich; esclerosis múltiple; demencia frontotemporal; enfermedad priónica; demencia por cuerpo de Lewy; parálisis supranuclear progresiva; demencia vascular; hidrocefalia con tensión normal; lesión medular traumática; demencia por VIH; neurotoxicidad inducida por alcohol; síndrome de Down; trastornos del movimiento del sistema nervioso central y/o periférico; enfermedades de la neurona motora (MND); atrofia muscular espinal; o cualquier otra enfermedad neurodegenerativa neurológica o psiquiátrica relacionada; daño cerebral; lesión cerebral; disfunción cerebral; disgrafía; disartria; apraxia; agnosia; amnesia; mareos; vértigo; coma; accidente cerebrovascular; daño medular; lesión medular; trastornos medulares; neuropatía central; neuropatía periférica; trastorno del nervio craneal; neuralgia del trigémino; tumores del sistema nervioso; infecciones del cerebro o la médula espinal; encefalitis; meningitis; enfermedad priónica; síndrome de dolor regional complejo; un trastorno del sistema nervioso autónomo; neuropatía autónoma; disautonomía; síndrome de taquicardia postural ortostática (POTS); síncope neurocardiogénico (NCS); atrofia multisistémica (MSA); neuropatía hereditaria sensitiva y autónoma (HSAN); síndrome de Holmes-Adie (HAS); un trastorno del sueño; narcolepsia; dolor; migraña; cefalea en racimos; cefalea tensional; dolor de espalda; dolor lumbar; dolor de cuello; dolor neuropático; dolor por cáncer; alodinia; dolor artrítico; dolor inflamatorio; un trastorno neuropsiquiátrico; trastorno por déficit de atención con hiperactividad; autismo; síndrome de Tourette; trastorno obsesivo compulsivo; un trastorno del espectro autista; síndrome de Rett; síndrome del cromosoma X frágil; síndrome de Angelman; trastorno hiperquinético; enfermedad mitocondrial; distonía; un cáncer; cáncer cerebral; glioma; cáncer de mama; cáncer de hígado; cáncer de pulmón; cáncer de páncreas; melanoma; cáncer de ovario; cáncer gástrico; cáncer renal; cáncer de vejiga; adicción; adicción a la nicotina; tabaquismo; adicción al alcohol; adicción a las drogas; trastorno por consumo de cannabis; un trastorno mental; trastorno de estrés postraumático; ansiedad; psicosis temprana; esquizofrenia; un trastorno cognitivo; accidente cerebrovascular; isquemia cardíaca; enfermedad de la arteria coronaria; tromboembolia; infarto de miocardio; enfermedad relacionada con la isquemia; un trastorno gastrointestinal; enfermedad inflamatoria intestinal; enfermedad de Crohn; colitis ulcerosa; náuseas; vómitos; emesis; mareo por movimiento; náuseas inducidas por quimioterapia; náuseas y vómitos inducidos por quimioterapia; inflamación; artritis; artritis reumatoide; osteoartritis; diabetes; presión arterial alta; control deficiente de la insulina; supresión del apetito; anorexia; encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal (NHIE); una enfermedad degenerativa del músculo esquelético; o distrofia muscular de Duchenne (DMD).
- 50 21. Una preparación de canabidiol (CBD) como se reivindica en la reivindicación 4, en donde la epilepsia es síndrome de Dravet, síndrome de Lennox Gastaut, síndrome de epilepsia relacionada con infección febril (FIRES), síndrome de Doose, síndrome de Sturge Weber, mutación CDKL5; síndrome de Aicardi; polimicrogiria bilateral; Dup15q; SNAP25; epilepsia rolándica benigna; epilepsia mioclónica juvenil; espasmo infantil (síndrome de West); y síndrome de Landau-Kleffner, epilepsia refractaria, espasmos juveniles, síndrome de West, espasmos infantiles, espasmos infantiles refractarios, complejo de esclerosis tuberosa (TSC); trastorno de almacenamiento neurogenético, lipofuscinosis neuronal ceroida (NCL), enfermedad de Batten, anomalía cerebral, atónica, idiopática, crisis de ausencia, crisis parcial, crisis parcial simple o crisis parcial compleja.
- 55

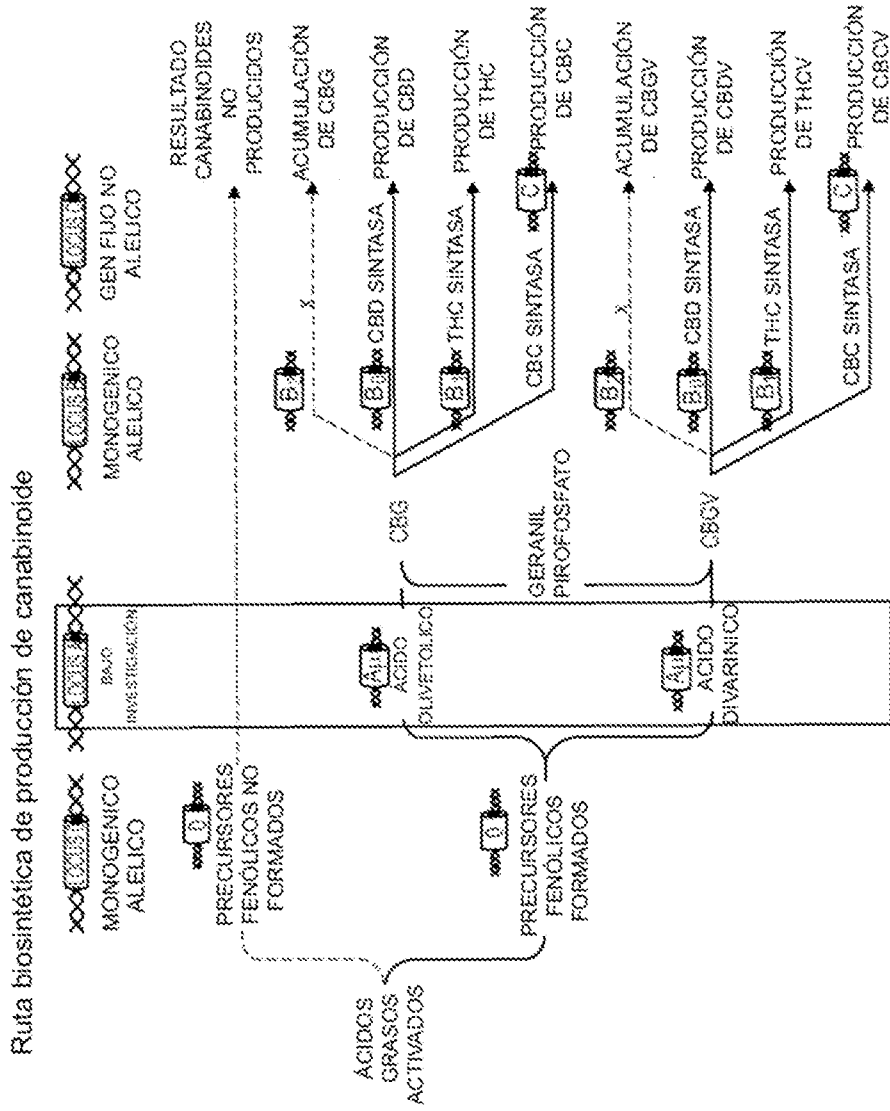


Fig. 1

Formas quirales de tetrahidrocanabinol (THC)

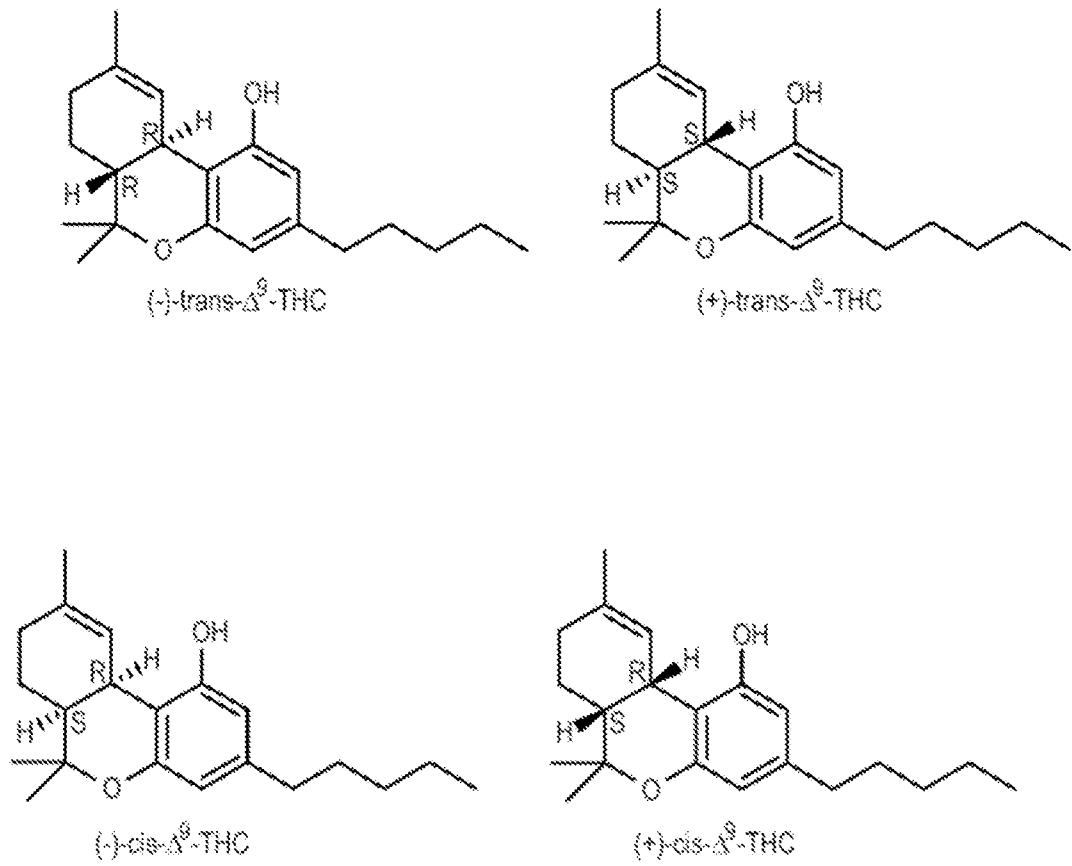


Fig. 2

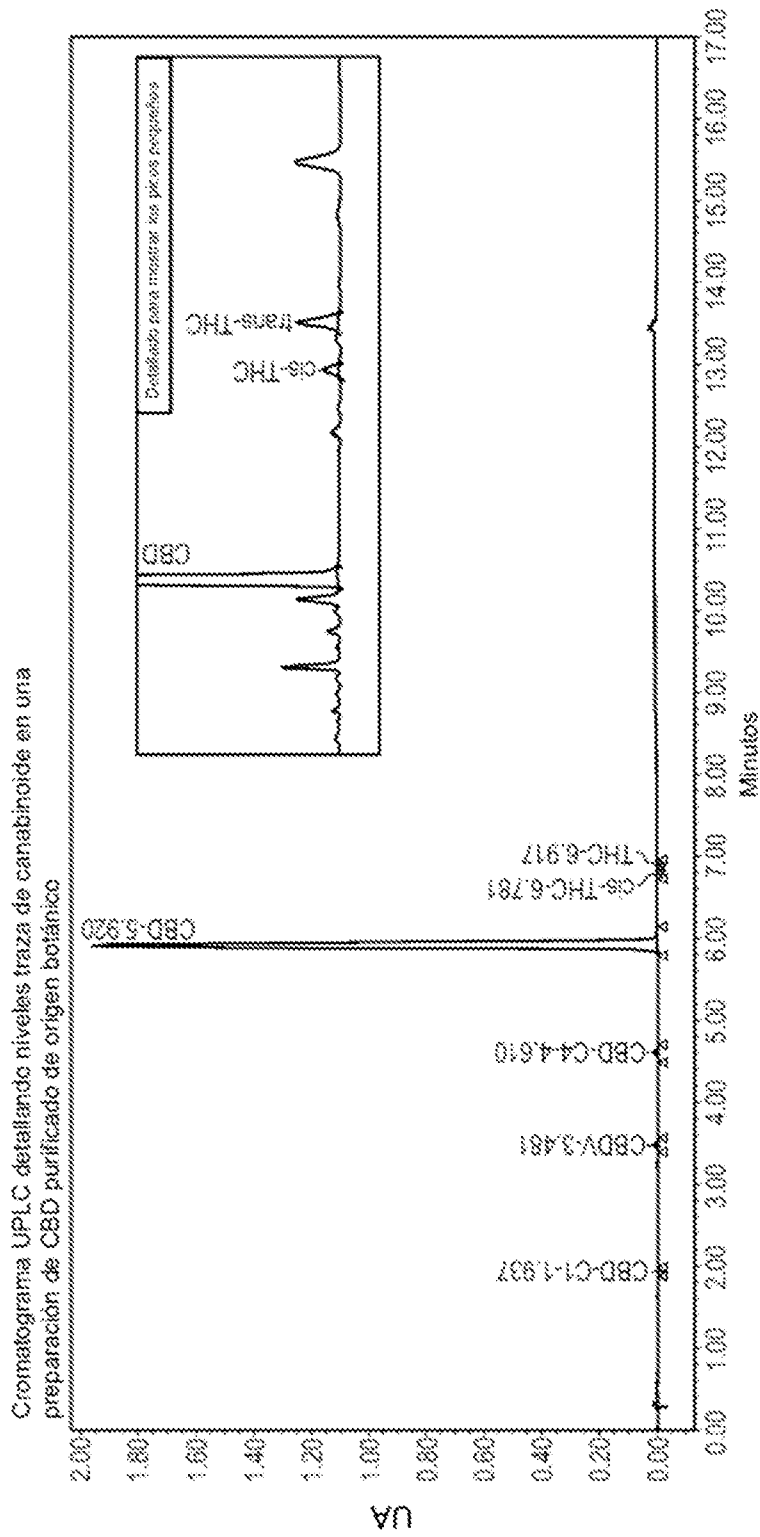


Fig. 3

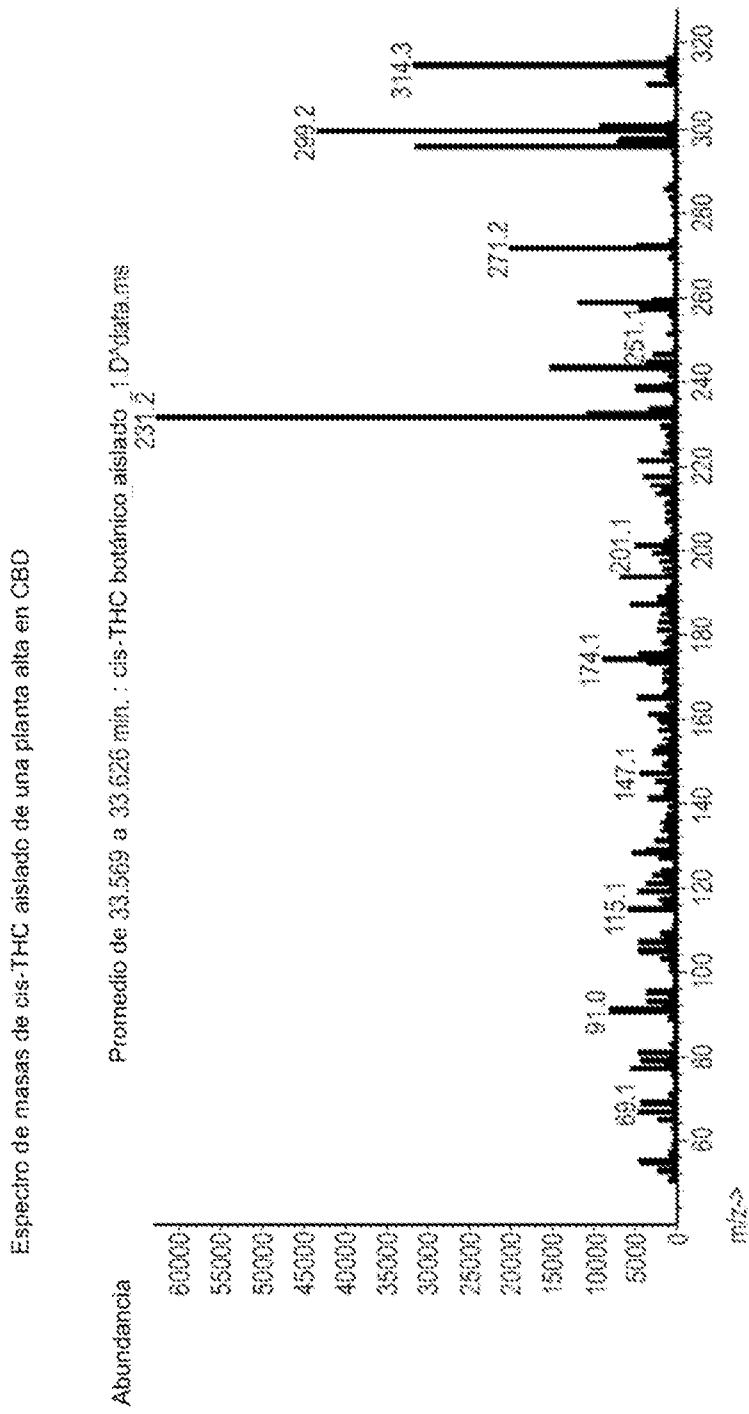


Fig. 4

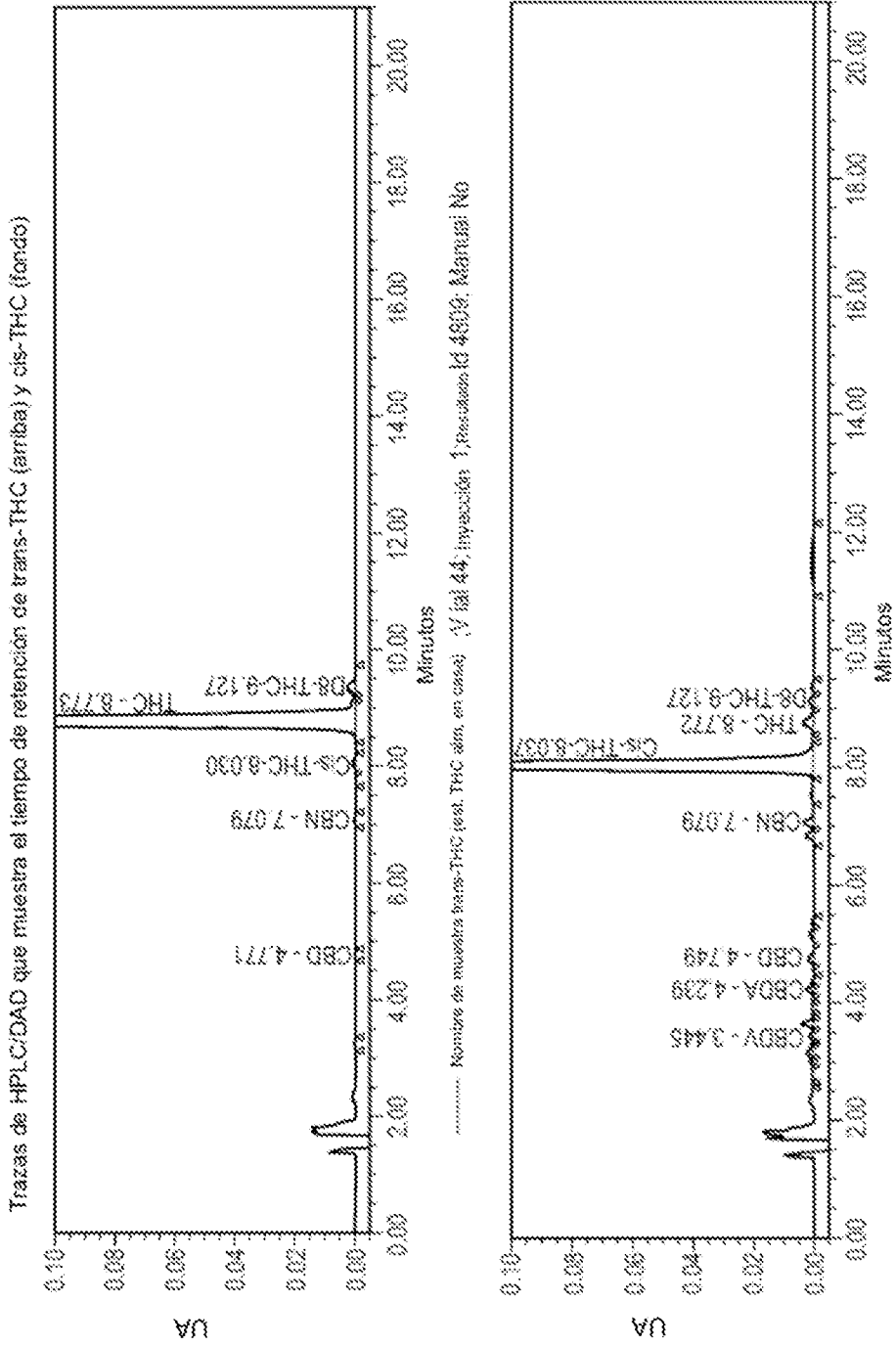


Fig. 5

Gráficos de rango de Spearman de trans-THC a cis-THC en el material de CBD durante las etapas de procesamiento

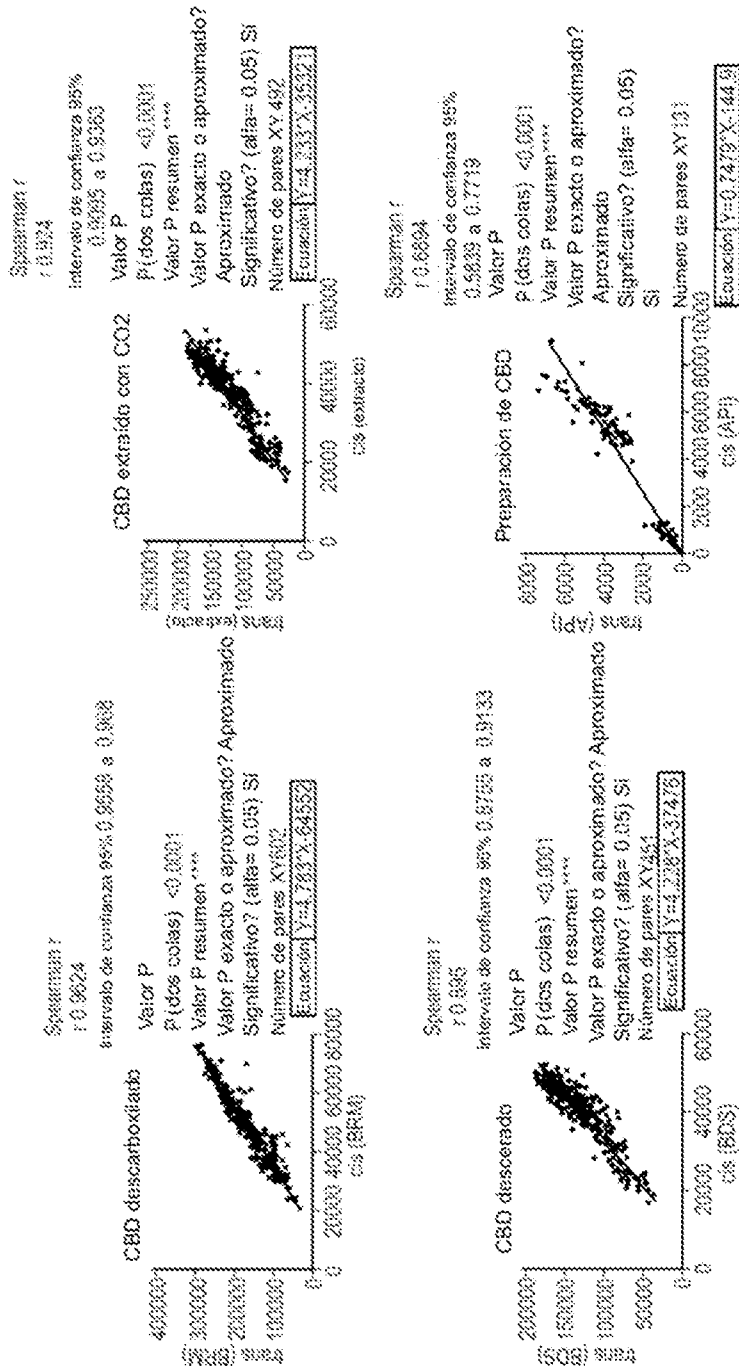


Fig. 6

Determinación de forma estereoisomérica de cis-THC presencia en preparación de CBD purificado de origen botánico

Traza A: estándar de trans-THC

Traza B: estándar de racemato de cis-THC

Traza C: Muestra de preparación de CBD purificado de origen botánico

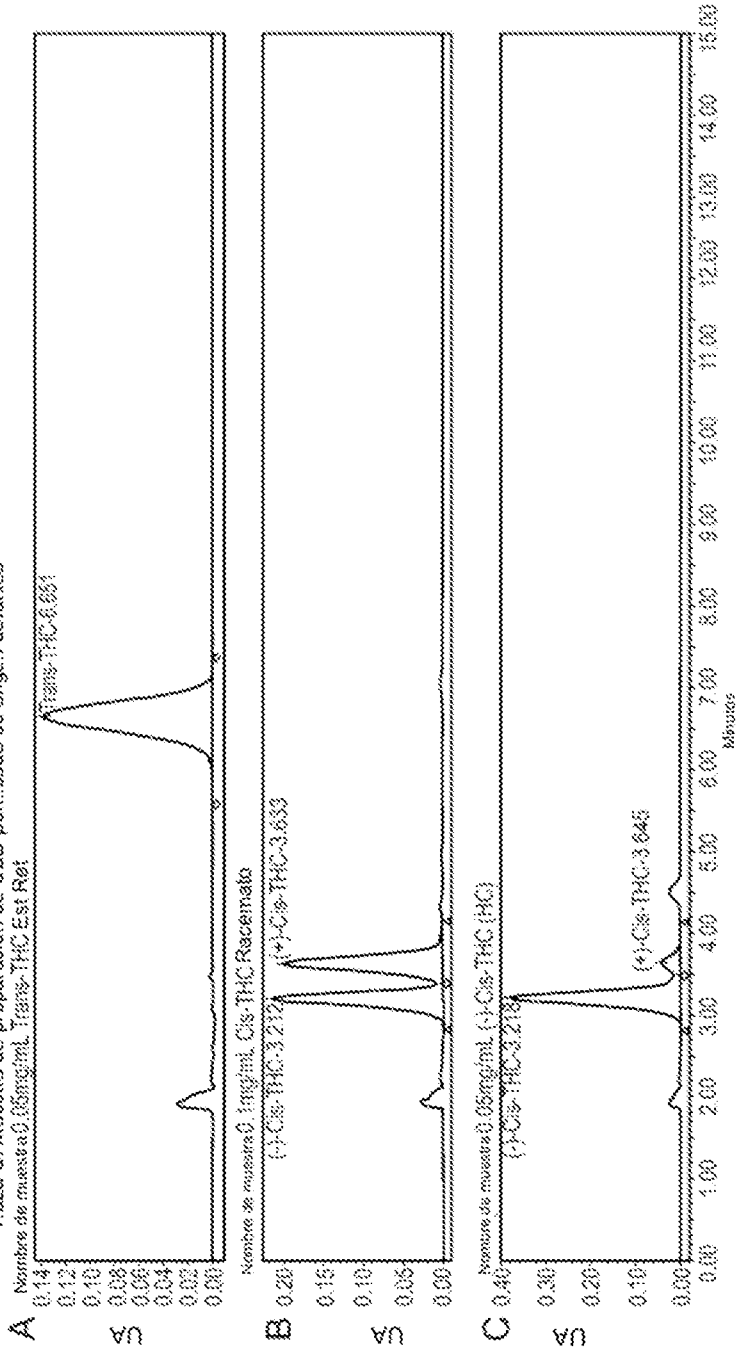


Fig. 7

Comparación por HPLC de CBD purificado de origen botánico y CBD sintético

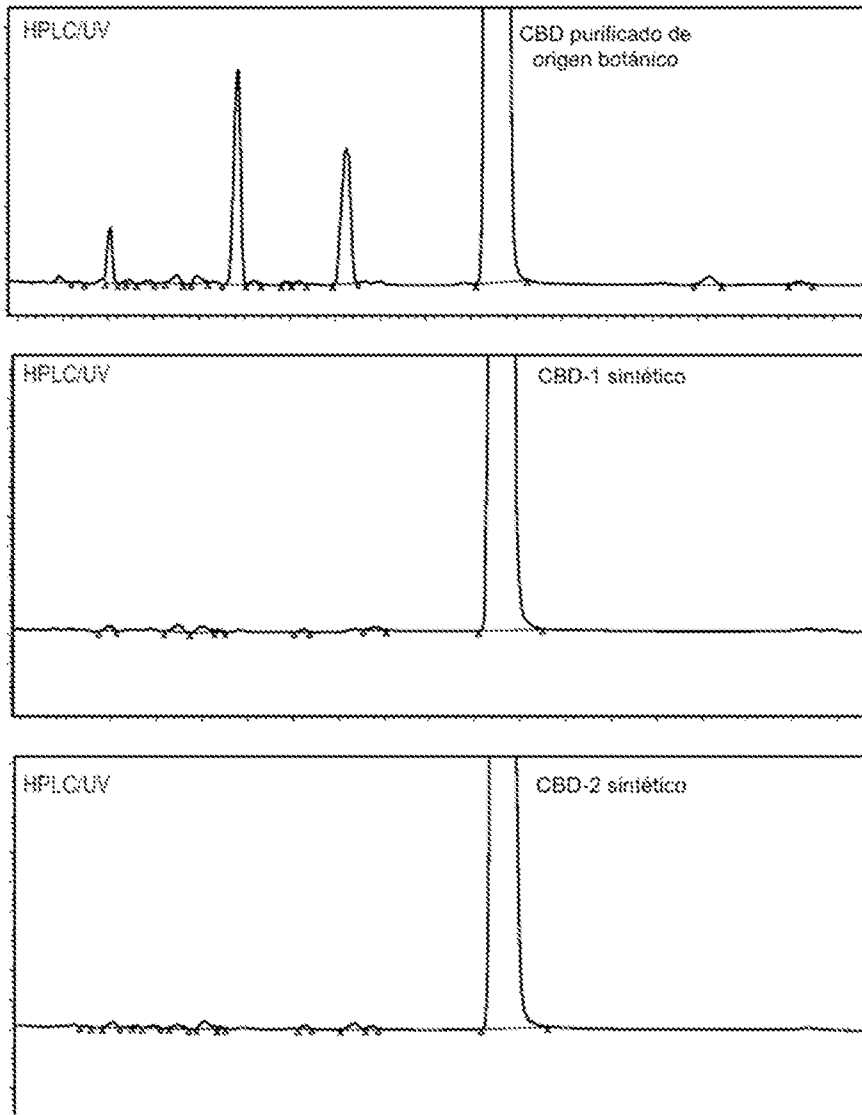


Fig. 8

Espectro de autofluorescencia de CBD purificado de origen botánico (BOT) y CBD sintético (SYN) a 100 mM representativo del escaneo de excitación desde 230 nm hasta por debajo de las longitudes de onda de emisión fijadas en 401 o 440 nm

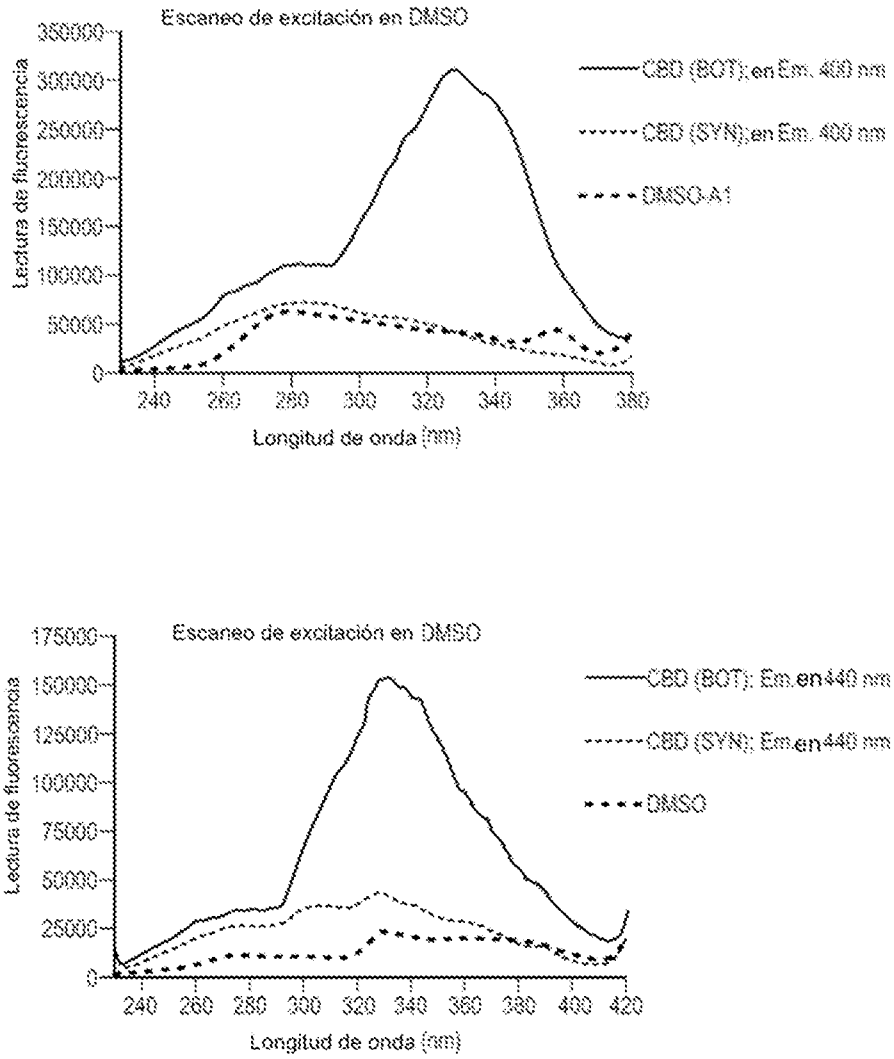


Fig. 9

Espectro de autofluorescencia de CBD purificado de origen botánico (BOT) y CBD sintético (SYN) a 100 mM representativo del escaneo de emisión hasta 800 nm por encima de las longitudes de onda de excitación fijadas en 360/370 nm para CBD purificado de origen botánico y 328/334/344/284 nm para CBD sintético.

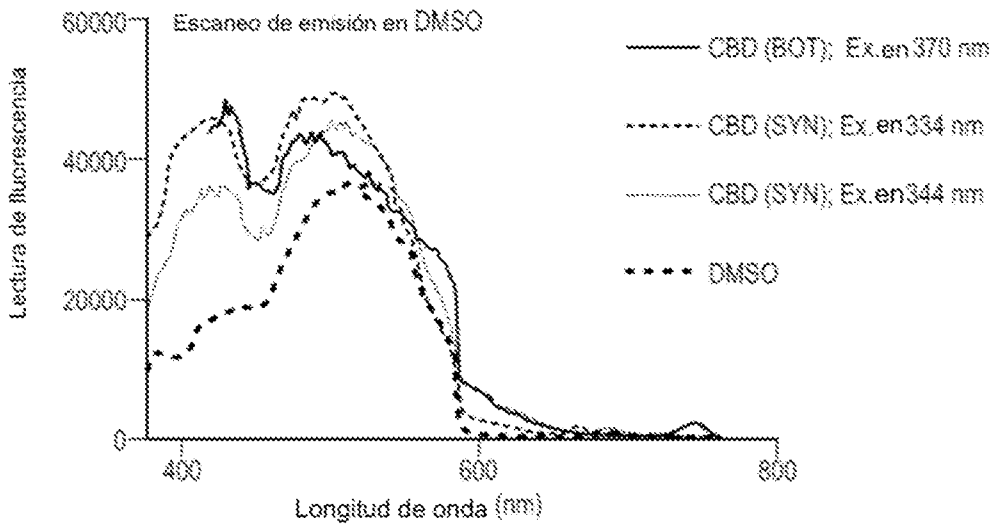
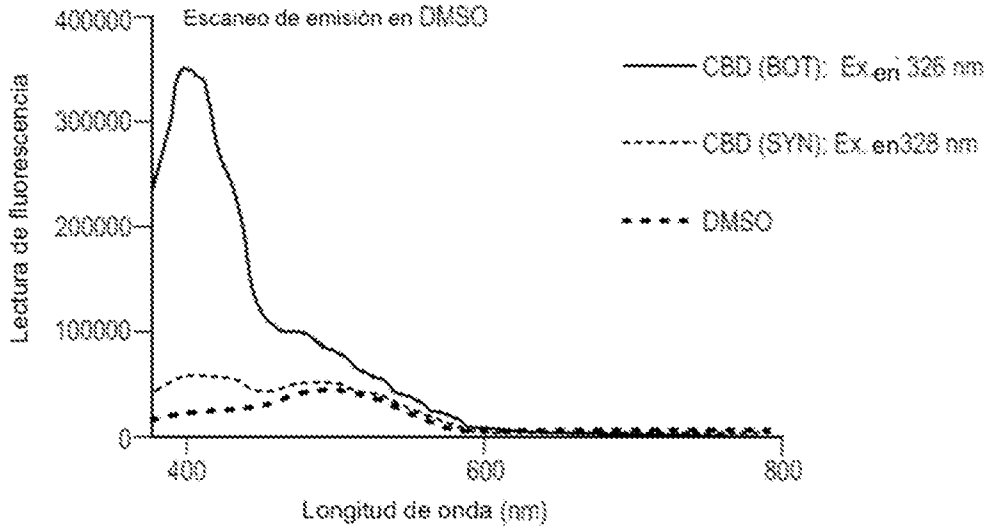


Fig. 10

Espectro de autofluorescencia de CBD purificado de origen botánico (BOT) y CBD sintético (SYN) a 100 mM representativo del escaneo de excitación desde 230 nm hasta por debajo de las longitudes de onda de emisión fijadas en 400 o 440 nm.

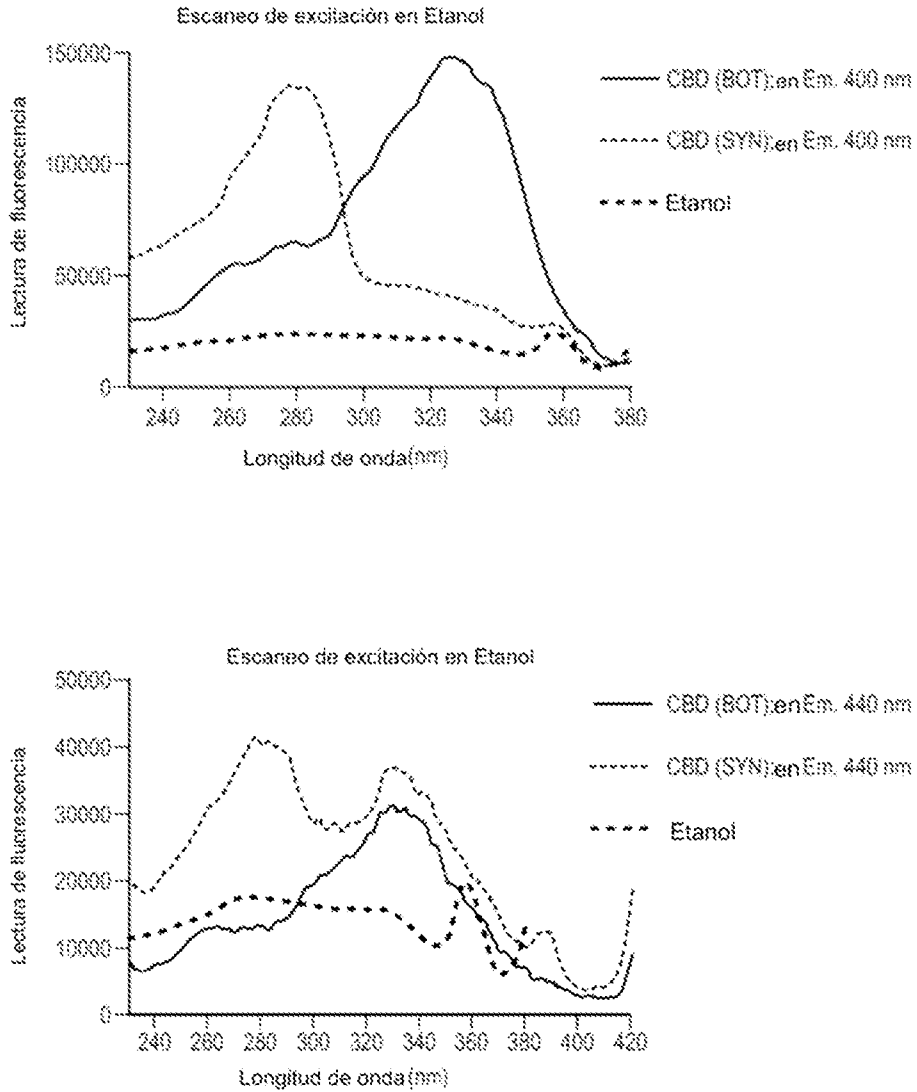


Fig. 11

Espectro de autofluorescencia de CBD purificado de origen botánico (BOT) y CBD sintético (SYN) a 100mM representativo del escaneo de emisión hasta 800 nm por encima de las longitudes de onda de excitación fijadas en 326/370 nm para CBD purificado de origen botánico y 326/340 nm para CBD sintético.

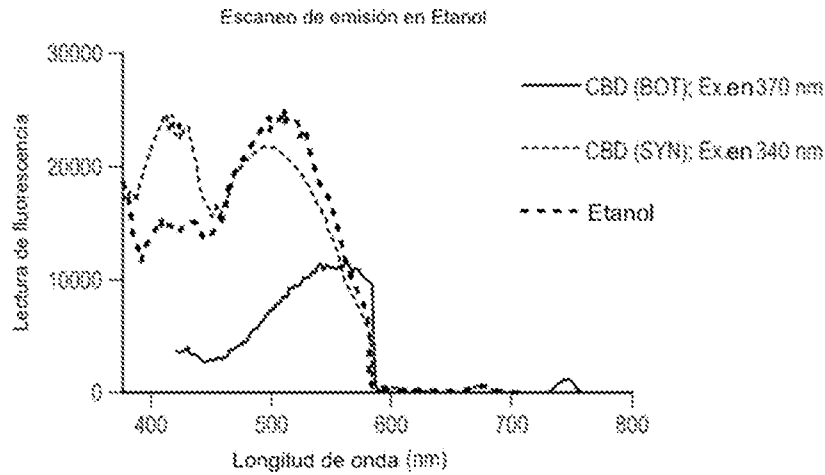
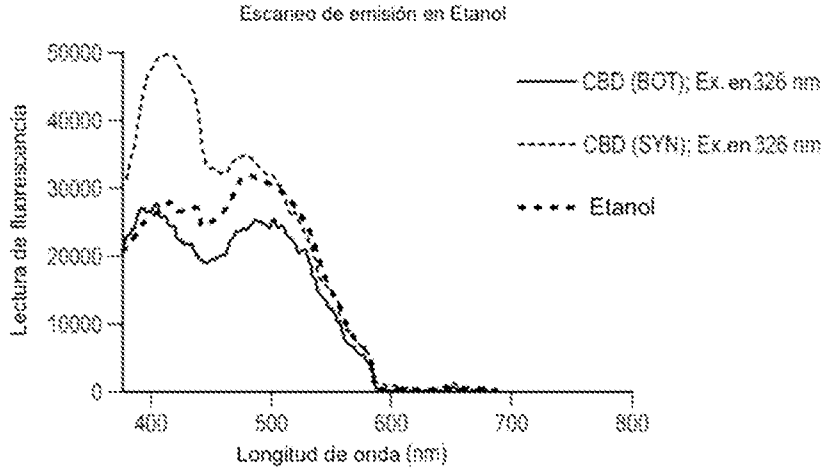
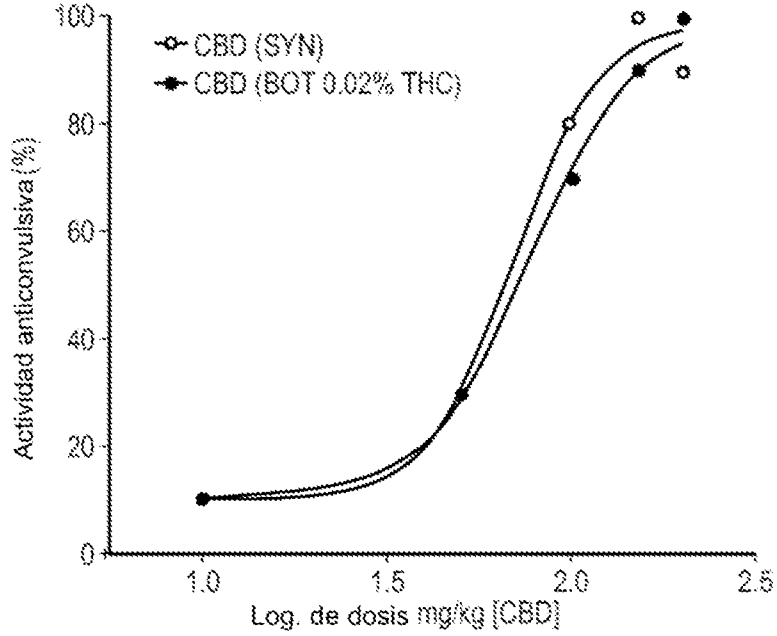


Fig. 12

Experimento 1 - curva sigmoideal que muestra el logaritmo de dosis de CBD frente a la actividad anticonvulsiva en la prueba MES

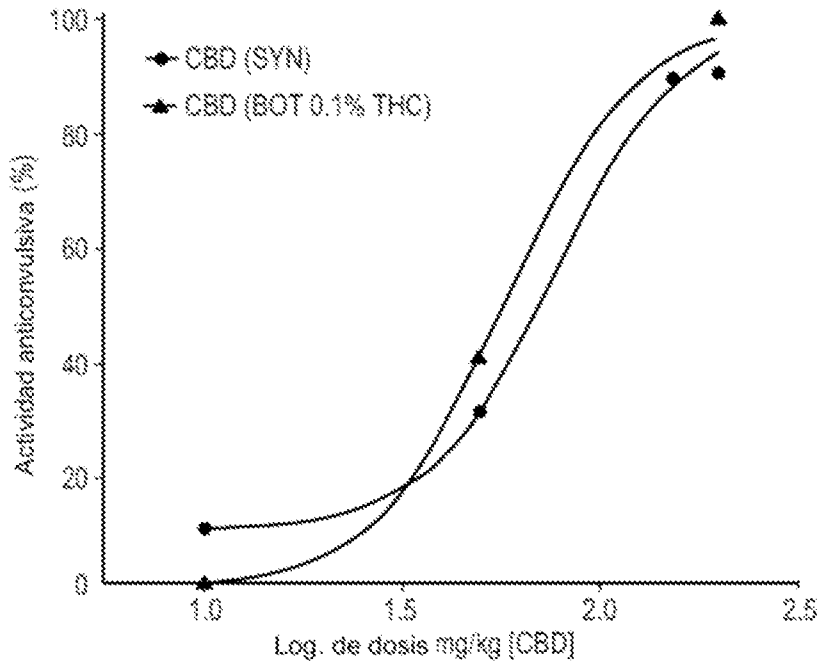


Análisis de curva sigmoideal en la prueba MES: dosis de CBD (SYN) y CBD purificado de origen botánico (BOT 0.02% de THC) a [10, 50, 100, 150 y 200 mg/kg]; i.p.; tiempo de 60 min previo al tratamiento; n=10

Análisis	CBD (SYN) ED <sub>50</sub> (mg/kg)	CBD (BOT) ED <sub>50</sub> (mg/kg)	prueba t (valor p)
Curva sigmoideal -- sup. constante	77.60	70.20	0.0013

Fig. 13

Experimento 2 - curva sigmoideal que muestra el logaritmo de dosis de CBD frente a la actividad anticonvulsiva en la prueba MES

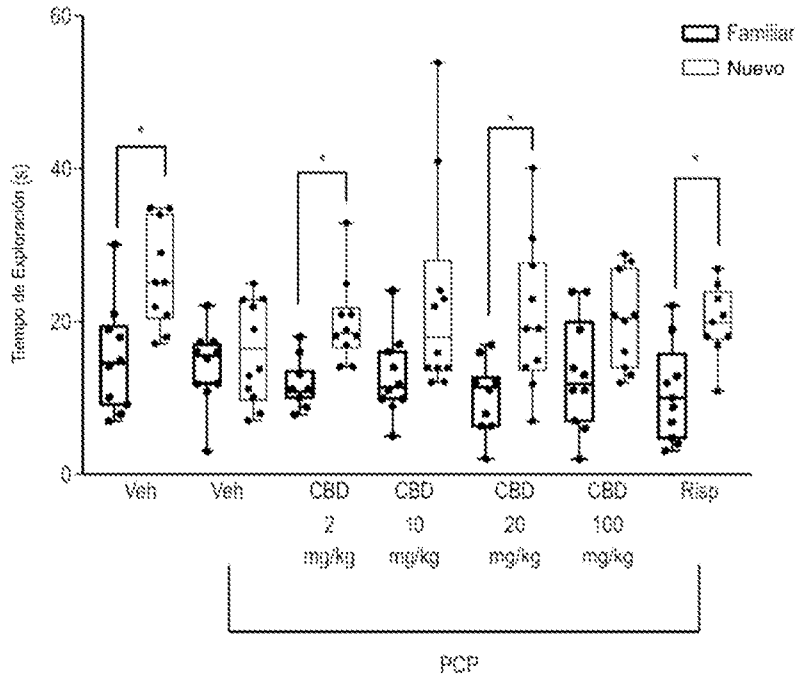


Análisis de curva sigmoideal en la prueba MES: dosis de CBD (SYN) y CBD purificado de origen botánico (BOT 0.1% de THC) a [10, 50, 100, 150 y 200 mg/kg]; i.p.; tiempo de 60 min previo al tratamiento; n=10

Análisis	CBD (SYN) ED <sub>50</sub> (mg/kg)	CBD (BOT) ED <sub>50</sub> (mg/kg)	prueba t (valor p)
Curva sigmoideal - sup. constante	77.40	57.94	0.0000015

Fig. 14

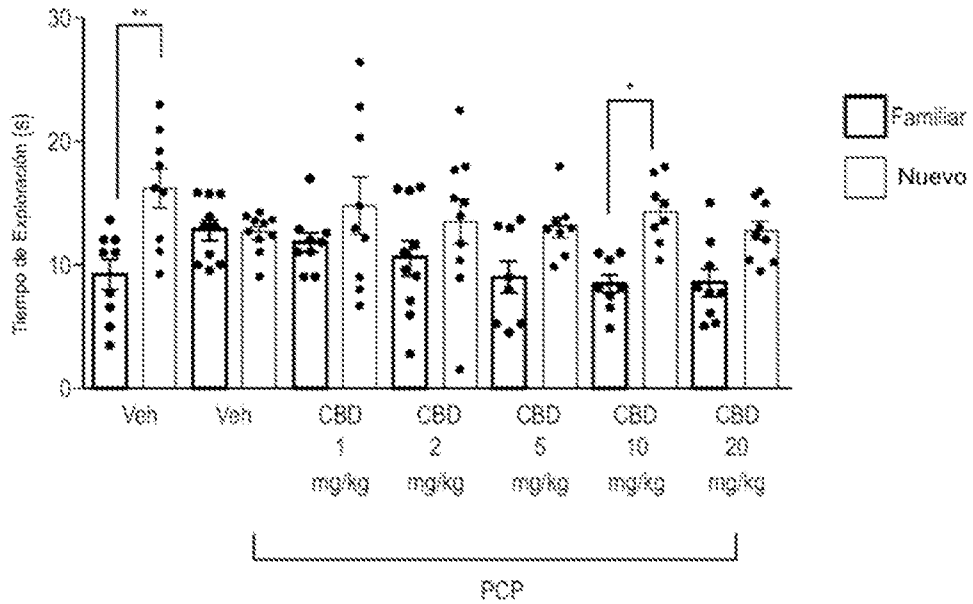
Tiempos de exploración nuevo frente a familiar en ratas tratadas con CBD purificado de origen botánico



\*P < 0.05 frente a familiar dentro del grupo de tratamiento. Kruskal Wallis seguido por comparaciones planeadas con la corrección de Dunns (n = 5-10). MED = 2 mg/kg

Fig. 15

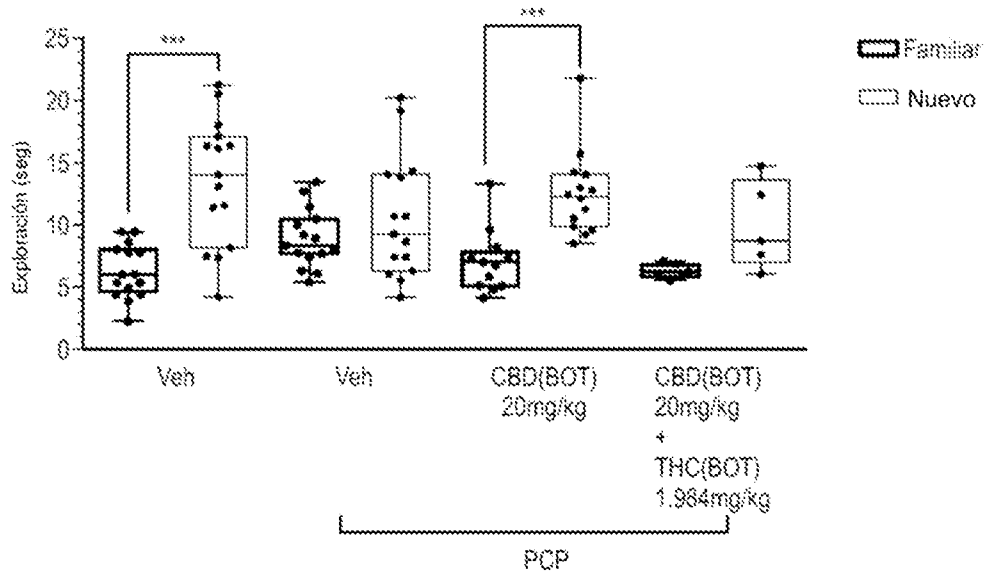
Tiempos de exploración nuevo frente a familiar en ratas tratadas con CBD sintético



\* \*\* = p < 0.01 a 0.05 comparado con familiar; ANOVA de Una vía seguido por comparaciones planeadas con la corrección de Sidaks; n=8-10; Prism V7 03. MED = 10 mg/kg

Fig. 16

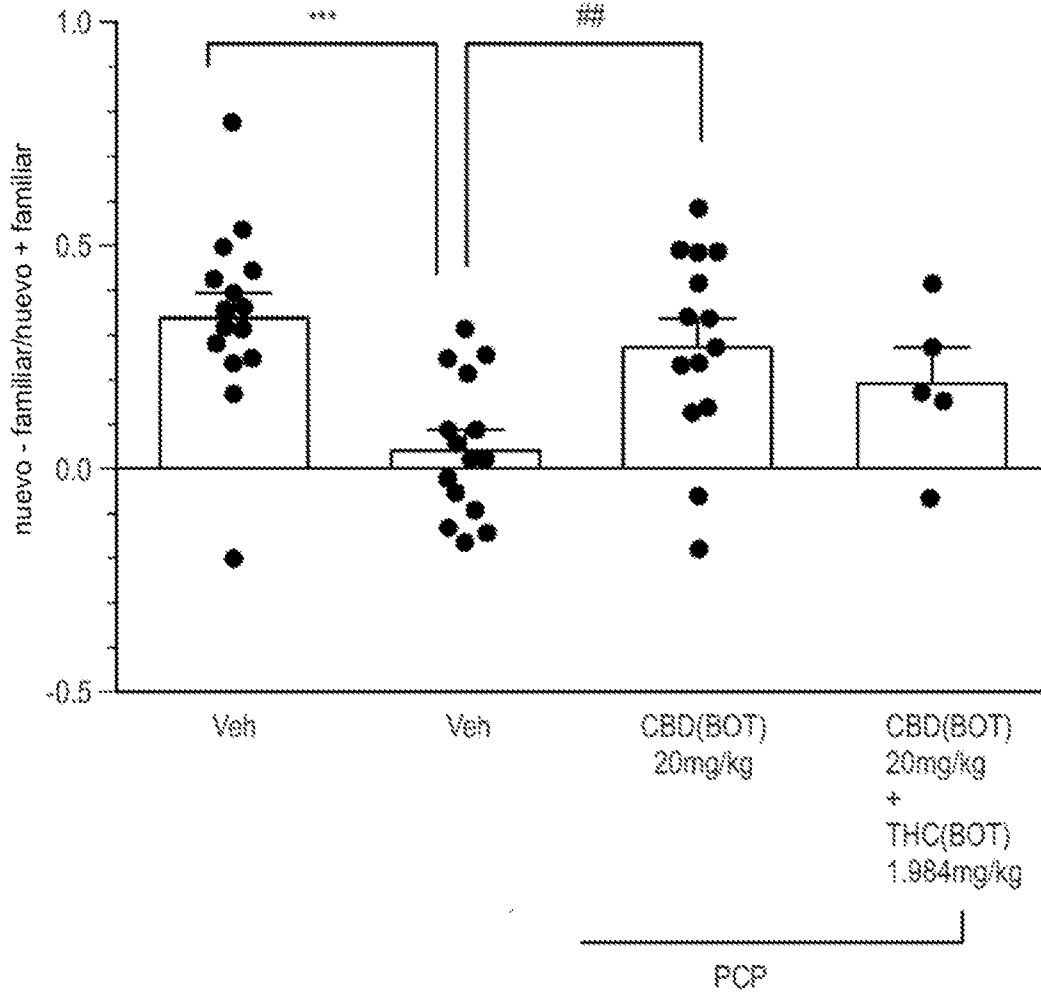
Tiempos de exploración nuevo frente a familiar en ratas tratadas con CBD purificado de origen botánico suplementado con THC a 10 y 20% (p/p)



\*\*\*P < 0.001 frente a familiar dentro del grupo de tratamiento. Kruskal Wallis seguido por comparaciones planeadas con la corrección de Dunns (n = 5-15).

Fig. 17

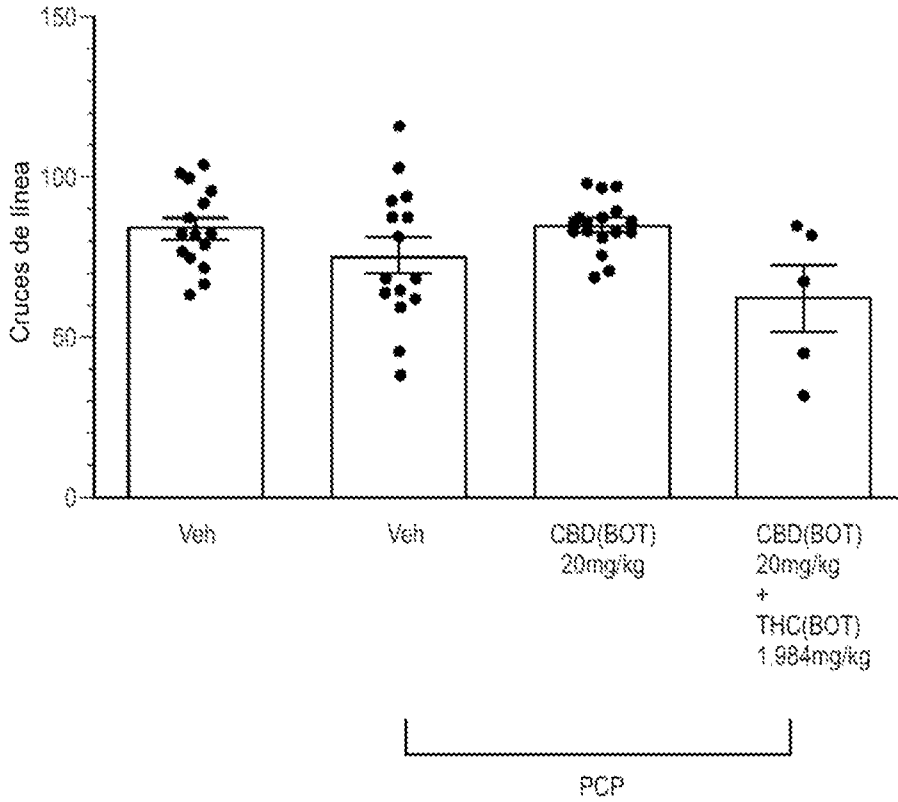
Índice de discriminación en ratas tratadas con CBD purificado de origen botánico suplementado con THC a 10 y 20% (p/p)



\*\*\*  $P < 0.001$  frente a vehículo/veh control, ##  $P < 0.01$  frente a veh/PCP. ANOVA de un factor seguido por comparaciones planeadas con corrección de Sidaks ( $n = 5-15$ ).

Fig. 18

Número de cruces de línea en ratas tratadas con CBD purificado de origen botánico suplementado con THC a 10 y 20% (p/p)



ANOVA de un factor no mostró diferencia (n = 5-15).

Fig. 19