



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 23 671 T2 2006.03.16**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 071 417 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 23 671.1**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/GB99/01140**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 915 942.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 99/052524**

(86) PCT-Anmeldetag: **14.04.1999**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **21.10.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **31.01.2001**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **09.02.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **16.03.2006**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **A61K 31/35 (2006.01)**

**A61K 31/05 (2006.01)**

**A61P 29/00 (2006.01)**

(30) Unionspriorität:

**9807639 14.04.1998 GB**

(73) Patentinhaber:

**The Mathilda and Terence Kennedy Institute of Rheumatology, London, GB; Yissum Research Development Company of the Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem/Jerusalem, IL**

(74) Vertreter:

**TER MEER STEINMEISTER & Partner GbR  
Patentanwälte, 33617 Bielefeld**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,  
NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**FELDMANN, Marc, London N6 4QT, GB; MALFAIT,  
Anne-Marie, Hampton, Middlesex TW12 3EP, GB;  
GALLILY, Ruth, 93706 Jerusalem, IL;  
MECHOULAM, Raphael, 92581 Jerusalem, IL**

(54) Bezeichnung: **VERWENDUNG VON CANNABIDIOL ALS ENTZÜNDUNGHEMMEDE MITTEL**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

**[0001]** Diese Anmeldung bezieht sich auf entzündungshemmende Mittel, insbesondere die Verwendung von Cannabidiol zur Behandlung von rheumatoider Arthritis, Multipler Sklerose, eiternder Colitis und Morbus Crohn, sowie auf medizinische Zubereitungen, die Cannabidiol enthalten.

**[0002]** Cannabis sativa, allgemein als Marihuana bekannt, ist seit Jahren in Gebrauch wegen seiner medizinischen Wirkungen, einschließlich fiebersenkender und analgetischer Eigenschaften. Ungefähr 80 Cannabis-Konstituenten, als Cannabinoide bezeichnet, treten natürlich auf als Verbindungen von 21 Kohlenstoffatomen von Cannabis und Analoga solcher Verbindungen und Ihren Metaboliten [Mechoulam, in "Marijuana Chemistry, Metabolism and Clinical effects, Academic Press, New York (1973), Seiten 1-99].

**[0003]** Die hauptsächliche psychoaktive Komponente von Marihuana ist Delta-9-Tetrahydrocannabinoid (THC), das in weitem Umfang untersucht worden ist. Studien haben gezeigt, daß THC das Wachstum, die Entwicklung und die reproduktive Aktivität beeinflusst [Pharmacol Rev. 38 (1986), Seiten 1-18 und 151-178; Marihuana, Pharmacological Aspects of Drug Dependence, Springer Verlag (1996), Seiten 83-158]. Versuche an Mäusen haben gezeigt, daß THT die Bildung von Antikörpern gegen rote Blutzellen von Schafen unterdrückt und Veränderungen in der Produktion von Cytokinen verursacht. In vitro Studien haben jedoch gezeigt, daß THC die Produktion verschiedener Cytokine wie etwa IL-1, IL-6 und TNF $\alpha$  durch Leukozyten unterdrücken oder steigern kann (je nach Dosierung).

**[0004]** Cannabidiol (CBD) ist in den meisten Cannabisprodukten (Haschisch, Marihuana, Ganja) in höheren Konzentrationen als THC enthalten. Cannabidiol wurde zuerst 1940 durch Todd und Adams isoliert [J. Amer. Chem. Soc. 62, 2194 (1940), J. Chem. Soc. 649 (1940)]. Seine Struktur wurde 1963 von Mechoulam und Shvo aufgeklärt (Tetrahedron, 19 (1963), Seite 2073]. Seine absolute Stereochemie wurde 1967 bestimmt [Tet. Lett., 1109-1111 (1967)]. Die Synthese von Cannabidiol in seiner racemischen Form und seiner natürlichen Form wurde in den 1960-er Jahren berichtet [J. Amer. Chem. Soc., 87, 3273-3275 (1965), Helv. Chim. Acta. 50 719-723 (1967)].

**[0005]** Cannabidiol hat keine psychotrope (cannabimimetische) Aktivität und bindet weder an die Gehirnrezeptoren noch an die peripheren Rezeptoren CB1 bzw.

**[0006]** CB2 (Science 169, 611-612 (1970); "Marijuana/cannabinoids: neurobiology and neurophysiology", ed. L. Murphy and A. Bartke, CRC Press, Boca Raton, 1-33 (1992)]. Es wurde jedoch beobachtet, daß Cannabidiol krampflösende Wirkungen hat [Pharmacol, 124, 141-146 (1982)]. Cannabidiol war auch wirksam in Tiermodellen, die für antipsychotische Aktivität prädiktiv sind, und es wurde festgestellt, daß es im Fall von Schizophrenie antipsychotische Effekte hat [Psychopharmacol., 104, 260-264 (1991); J. Clin. Psychiatry, 56, 485-486 (1995)].

**[0007]** Cannabidiol ist sporadisch in vivo und in vitro auf seine immunmodulatorischen Wirkungen untersucht worden. Smith et al] Proc. Soc. Exp. Bio Med. 214 (1997), Seiten 69-75] demonstrierten, daß BALB/C-Mäuse, denen Cannabidiol injiziert wurde, keine signifikante Änderung im Pegel von mRNA von IL-1, IL-6 und TNF $\alpha$  zeigten. Bei einer Dosis von 8 mg/kg Cannabidiol war die Mortalität von Mäusen, denen Legionellen sublethal injiziert wurden, nicht beeinflusst.

**[0008]** Vorläufige Studien von Formukong et al [Inflammation, 12, 361-371 (1988)] zeigten, daß Cannabidiol die PBQ-induzierte Krümmung von Mäusen verhinderte, wenn es oral in Dosen von bis zu 10 mg/kg verabreicht wurde. Ebenso wurde gezeigt, daß Cannabidiol TPA-induzierte Erytheme, die von der Freisetzung von Prostaglandin abhängig sind, in Mäusen reduziert, wenn es topisch angewandt wird.

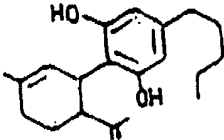
**[0009]** In einer in vitro Studie zeigten Coffey et al [Biochem. Pharmacol, 52 (1996), Seiten 743-51], daß THC und Cannabidiol die durch LPS und IFN $\gamma$  aktivierte Produktion von Stickoxiden (NO) durch Makrophagen im Bauchfell von Mäusen verhinderte. Watzl et al [Drugs of Abuse, Immunity and Immunodeficiency, Plenum Press, New York, 63-70 (1991)] untersuchten in vitro die Wirkungen von THC und Cannabidiol auf Sekretionen von IL-1, IL-2, IL-6, TNF $\alpha$  und IFN $\gamma$  durch menschliche Leukozyten nach Aktivierung mit Stickstoff (mitrogen). Sie fanden, daß beide Cannabinoide in niedrigen Konzentrationen die Produktion von IFN $\gamma$  erhöhen, während hohe Konzentrationen (5-24  $\mu$ g/ml) die Synthese von IFN $\gamma$  vollständig blockierten, und Cannabidiol sowohl die Produktion von IL-1 als auch die von TNF $\alpha$  reduzierte und die Sekretion von IL-2 nicht beeinflusste.

**[0010]** Die Erfinder haben nun unerwartet festgestellt, daß Cannabidiol zur Behandlung von entzündlichen Er-

krankungen verwendet werden kann, etwa von rheumatoider Arthritis und Morbus Crohn. Bei entzündlichen Erkrankungen treten komplexe Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Komponenten auf, etwa zwischen Interleukinen (IL-1, IL-6 und IL-8), TNF- $\alpha$  und verschiedenen Mediatoren wie etwa Stickoxid, ROI und PGE<sub>2</sub>. Die Erfinder haben festgestellt, daß Cannabinoide in vivo als entzündungshemmende Mittel wirken. Obgleich die nachstehende Beschreibung für alle Cannabinoide gilt, ist die beanspruchte Erfindung auf Cannabidiol beschränkt.

**[0011]** Cannabidiol wird verwendet bei der Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von rheumatoider Arthritis, Multipler Sklerose, eiternder Colitis und Morbus Crohn, wahlweise zusammen mit einer zweiten entzündungshemmenden Verbindung.

**[0012]** Cannabidiol hat die Formel:



**[0013]** Der isolierte Term soll ein natürlich auftretendes Cannabinoid enthalten, das durch Reinigung aus einer natürlichen Quelle gewonnen wurde oder chemisch synthetisiert wurde.

**[0014]** Ein Verfahren zur Behandlung eines Patienten, der an einer entzündlichen Erkrankung leidet, umfaßt den Schritt der Verabreichung einer pharmazeutisch akzeptablen Menge von Cannabidiol an den Patienten.

**[0015]** Der Patient ist vorzugsweise ein Säugetier, beispielsweise ein Mensch.

**[0016]** Das Medikament kann z.B. oral, intramuskulär, subcutan, intradermal, intravenös, als Nasenspray oder topisch verabreicht werden.

**[0017]** Als eine allgemeine Empfehlung wird die pharmazeutisch effektive Gesamtmenge an verabreichtem Cannabinoid im Bereich von 1  $\mu$ g/kg/Tag bis 50 mg/kg/Tag liegen, bezogen auf das Körpergewicht des Patienten, vorzugsweise 2, 5 bis 10 mg/kg/Tag, insbesondere 5 mg/kg/Tag.

**[0018]** Somit bezieht sich die Erfindung auch auf medizinische Zubereitungen, einschließlich topischer Formulierungen, Kapseln, Tabletten und/oder injizierbarer Formulierungen, die Cannabidiol enthalten.

**[0019]** Bevorzugt werden die Cannabinoide gemäß einem der vorstehenden Aspekte der Beschreibung mit einer oder mehreren als entzündungshemmend bekannten Verbindungen verwendet oder kombiniert, insbesondere Verbindungen gegen rheumatoide Arthritis wie Methotrexat. Dies erlaubt es, vorteilhafte Eigenschaften der Cannabinoide mit bekannten Eigenschaften der bekannten Verbindung oder Verbindungen zu kombinieren.

**[0020]** Die Erfindung wird nun lediglich als Beispiel unter Bezugnahme auf die Zeichnungen beschreiben, die folgendes zeigen:

**[0021]** [Fig. 1](#) zeigt die klinischen Punktzahlen für Mäuse, die mit CBD (Cannabidiol) behandelt wurden. Bei Verwendung des Mann-Whitney U-Tests für den Vergleich von nicht-parametrischen Daten wurden beim Vergleich von behandelten Mäusen mit Kontrollmäusen die folgenden p-Werte erhalten: für 20 mg/kg,  $p < 0,05$  am Tag 3, Tag 7 und Tag 9; für 10 mg/kg,  $p < 0,05$  für die Tage 3, 5, 7 und 9; für 5 mg/kg,  $p = 0,0004$  an Tag 3,  $p = 0,0096$  am Tag 5;  $p = 0,0269$  am Tag 7 und  $p = 0,0285$  am Tag 9.

**[0022]** [Fig. 2](#) zeigt die Wirkung von CBD auf die Pfotenstärke. Für 10 mg/kg,  $p = 0,004$  am Tag 3 und  $p = 0,0145$  am Tag 5; für 5 mg/kg,  $p = 0,0001$  am Tag 3 und  $p < 0,0001$  an den Tagen 5, 7, 9 und 10.

**[0023]** [Fig. 3](#) zeigt histologische Daten für die Behandlung von Mäusen mit CBD, wie in den Beispielen beschrieben. Die hinteren Pfoten wurden als normal, leicht beeinträchtigt und schwer geschädigt bewertet.

**[0024]** [Fig. 4](#) zeigt dosisabhängige Effekte von CBD in einem chronischen CIA-Modell. Ab den ersten Anzeichen für Gelenkschwellung wurden Mäuse 3 mal pro Woche über einen Zeitraum von 5 Wochen mit CBD behandelt, 5 mg/kg oder 10 mg/kg i.p. Kontrollmäuse wurden nur mit dem Vehikel behandelt, wie in Materials and

Methods beschrieben wird. Die Resultate sind als ein Mittelwert von 6 Mäusen ausgedrückt. Der AUC für die Kontrollgruppe ist 38,4 und für die mit 5 mg/kg behandelte Gruppe 28,9.

**[0025]** [Fig. 5](#) zeigt die Wirkung von oraler Verabreichung von CBD. Ab dem ersten Anzeichen für Arthritis wurden die Mäuse täglich über einen Zeitraum von 10 Tagen mit CBD mit den genannten Konzentrationen behandelt. Das Medikament wurde durch orale Sondenfütterung verabreicht. Daneben wurden Kontrollmäuse mit dem Vehikel (Olivenöl) gefüttert, wie in Materials and Methods beschrieben wird. Die Resultate sind ausgedrückt als ein mittlerer  $\pm$  SEM. Die Gruppe, die mit 25 mg/kg behandelt wurde, war vom 5. Tag an signifikant besser als die Kontrollgruppe ( $p = 0,0411$ ).

**[0026]** [Fig. 6](#) zeigt die Wirkung von oraler Fütterung von CBD bei chronischer CIA. Mäuse wurden mit 25 mg/kg CBD gefüttert. Kontrollmäuse wurden mit dem Vehikel gefüttert (Olivenöl).

**[0027]** [Fig. 7](#) zeigt die Wirkungen von CBD bei experimenteller autoimmuner Enzephalomyelitis. Zwei Gruppen von weiblichen 6 SJL/J-Mäusen wurde Homogenat aus dem Rückenmark von Mäusen injiziert, um EAE zu induzieren. Die Behandlung begann bei der Einleitung der Erkrankung (Tag 0) und wurde 14 Tage lang 1 mal pro Tag fortgesetzt. CBD wurde i.p. injiziert, mit einer Dosis von 10 mg/kg. Die Kontrollgruppe blieb unbehandelt.

**[0028]** [Fig. 8](#) zeigt, daß CBD nach LPS-Stimulation die Pegel von TNF $\alpha$  im Serum reduziert. Weiblichen C57BL/6-Mäusen wurde 100  $\mu$ g LPS i.p. (intraperitoneal) injiziert, zusammen mit CBD, i.p. oder subcutan (s.c.) 200  $\mu$ g/Maus (10 mg/kg). Nach 90 Minuten wurde den Mäusen Blut abgenommen, und der Pegel von TNF $\alpha$  im Serum wurde durch biologische Untersuchung bestimmt.

**[0029]** [Fig. 9](#) zeigt die Wirkung von CBD auf das Ansprechen von Lymphozyten auf Mitogene. Milzzellen ( $1 \times 10^6$ /Napf) von entweder BALB/c ([Fig. 9a](#)) oder C57BL/6 ([Fig. 9b](#)) Mäusen wurden auf Mikroplatten mit flachem Boden 2 Tage lang mit einem Medium, 3  $\mu$ g/ml ConA oder 50  $\mu$ g/ml LPS, in Gegenwart der angegebenen Konzentrationen von CBD inkubiert. Die Kulturen wurden mit  $^3$ H-Thymidin gepulst und 6 Stunden später geerntet.

**[0030]** [Fig. 10](#) zeigt die Wirkung von CBD auf gemischte Leukozytenreaktion. Milzzellen ( $1 \times 10^6$ /Napf) von jeweils BALB/c-Mäusen wurden auf Mikroplatten mit flachem Boden 3 Tage lang mit einer gleichen Anzahl von bestrahlten Syngenen oder Allogenen (B6) Splenozyten in Gegenwart der angegebenen Konzentrationen von CBD inkubiert. Die Kulturen wurden mit  $^3$ H-Thymidin gepulst und 18 Stunden später geerntet.

**[0031]** [Fig. 11](#) zeigt die Wirkung von CBD auf zelluläre Zytotoxizität. Milzzellen ( $1,25 \times 10^6$ /ml) von B6 (H-2<sup>b</sup>) Mäusen wurden 5 Tage lang mit einer gleichen Anzahl von bestrahlten BALB/c (H-2<sup>d</sup>) Splenozyten in Gegenwart der angegebenen Konzentrationen von CBD (gemischte Kulturen von Leukozyten, MLC) inkubiert. Die von MLC geernteten Zellen wurden auf ihre cytotoxische Aktivität gegen mit  $^{51}$ Cr-markierte P815 (H-2<sup>d</sup>) Lymphom-Zelllinien getestet. Die cytotoxische Aktivität ist angegeben in LU/ $10^6$  Zellen (siehe Materials and Methods).

#### Beispiel 1

##### Wirkung von CBD auf die TNF $\alpha$ Produktion durch Thioglycollat-induzierte Makrophagen

**[0032]** Mit Thioglycollat angelockte Makrophagen aus dem Bauchfell von C57BL/6 Mäusen wurden mit LPS und IFN $\gamma$  aktiviert. Die Effekte unterschiedlicher Konzentrationen von CBD auf die Produktion von TNF $\alpha$  wurden untersucht. IFN- $\gamma$  und IFN- $\alpha$  wurden von Boehringer Mannheim, Deutschland, bezogen. Die Resultate sind in Tabelle 1 gezeigt.

#### Tabelle 1

**[0033]** Wirkung von CBD auf die Produktion von TNF $\alpha$  durch Thioglycollat-induzierte Makrophagen.

## A) Aktivierung durch LPS 1 µg/ml

Zellen & Agens	6h	% Unterdrückung	24h	% Unterdrückung
0	0,4		9	
LPS	596		277	
LPS + CBD 6 µg/ml	290	51	34	88
LPS + CBD 4 µg/ml	271	54	36	87
LPS + CBD 2 µg/ml	543	9	90	67

B) Aktivierung durch LPS 1 µg/ml + IFN $\gamma$  10 U/ml

Zellen & Agens	6h	% Unterdrückung	24h	% Unterdrückung
0	0,4		9	
LPS + IFN $\gamma$	716		2664	
LPS + IFN $\gamma$ 6 CBD µg/ml	548	24	207	92
LPS + IFN $\gamma$ 4 CBD µg/ml	478	33	437	84
LPS + IFN $\gamma$ 2 CBD µg/ml	744	0	4578	erhöht 72%

[0034] Thioglycolat-angelockte Bauchfellmakrophagen aus C57BL/6-Mäusen.

[0035] Tabelle 1 zeigt, daß CBD die Produktion von TNF $\alpha$  unterdrückt. Niedrige Konzentrationen von CBD scheinen die Produktion von TNF $\alpha$  zu steigern.

## Beispiel 2

Die Wirkungen von CBD auf die Produktion von Stickoxid wurden ebenfalls untersucht

[0036] Die Resultate sind in Tabelle 2 gezeigt.

## Tabelle 2

[0037] Wirkung von CBD auf die Erzeugung von Stickoxid (NO) durch Thioglycollat-induzierte Makrophagen.

## A) Aktivierung durch LPS (1 µg/ml)

Zellen & Agens	NO (nM)*			
	24 h	% Unterdrückung	48h**	% Unterdrückung
Kontrolle	0,1		0,3	
LPS 1 µg/ml	5,4		7,3	
LPS + 1 µg/ml + CBD 8	0,1	99	0,4	95
LPS + 1 µg/ml + CBD 6	0,1	99	2,1	71
LPS + 1 µg/ml + CBD 4	0,5	90	4,6	37
LPS + 1 µg/ml + CBD 2	3,7	32	6,7	9

B) Aktivierung durch LPS 1µg/ml + IFN $\gamma$  10 U/ml

Zellen & Agens	NO (nM)*			
	24 h	% Unterdrückung	48h**	% Unterdrückung
LPS + IFN $\gamma$	13,9		20,5	
LPS + IFN $\gamma$ + CBD 8	0,2	99	3,1	85
LPS + IFN $\gamma$ + CBD 6	5,5	61	18,1	11,5
LPS + IFN $\gamma$ + CBD 4	6,9	51	21,3	- (↑ 4%)
LPS + IFN $\gamma$ + CBD 2	12	14	25,4	- (↑ 24%)

\* Untersucht mit Griess-Reagens

\*\* Nach 48 Stunden waren die M $\phi$  in Kultur mit 8 µg/ml CBD nur zu 70% brauchbar

[0038] Wiederum scheinen niedrige Konzentrationen von CBD die Produktion von Stickoxid zu aktivieren,

während höhere Konzentrationen die Produktion von Stickoxid blockieren.

### Beispiel 3

In vitro Effekte auf menschliche mononukleare periphäre Blutzellen

Zubereitung von CBD von in vitro Experimente

**[0039]** CBD wurde in Ethanol/DMSO aufgelöst. Das Ethanol wurde anschließend mit Hilfe eines SpeedVac verdampft, und das CBD wurde erneut in einem warmen Medium mit Stock-Konzentrationen von 1 mg/ml suspendiert.

Kultur menschlicher mononuklearer periphärer Blutzellen

**[0040]** Mononukleare periphäre Blutzellen (PBMC) wurden mit Ficoll Hypaque Gradient aus dem gesamten Blut von gesunden Spendern isoliert. Sie wurden mit  $2 \times 10^5$  Zellen/ml in Mikrotitrierplatten (200  $\mu$ /Napf) mit 96 Nöpfchen in Kultur gehalten und 6 Stunden lang mit einem Dosisbereich von CBD (von  $\mu$ g/ml) inkubiert. Nach dieser 6-stündigen Vorbehandlungszeit wurden die Zellen entweder mit LPS aus *Salmonella typhimurium*, 10 ng/ml, 24 Stunden lang (für TNF und IL-1 $\beta$ ) oder mit PHA, 5  $\mu$ g/ml, 72 Stunden lang, (für IFN $\gamma$ ) stimuliert. Die Brauchbarkeit der PBMC wurde mit dem MTT-Test bewertet.

## RESULTATE

In vitro Effekte von CBD auf die Freisetzung von Cytokinen durch Kulturzellen

**[0041]** Tabelle 3 faßt die Wirkungen von CBD auf aktivierte humane PBMC zusammen. Interessanterweise wurde festgestellt, daß die niedrigeren Konzentrationen von CBD (0,1 bis 5  $\mu$ g/ml) die Freisetzung von LPS-induzierten entzündungsfördernden Cytokinen TNF $\alpha$  und IL-1 $\beta$  signifikant unterdrückten, während die höheren Konzentrationen ihre Freisetzung steigerten. Dieses Ergebnis war reproduzierbar und ist wichtig im Hinblick auf die Tatsache, daß wir auch bei der Behandlung von arthritischen Mäusen mit CBD in vivo einen glockenförmigen Effekt gefunden haben. Mit der höchsten Dosis von 20 mg/kg i.p. konnte die Arthritis nicht verbessert werden ([Fig. 1](#) und [Fig. 2](#)).

Tabelle 3

	TNF $\alpha$ (pg/ml)	IL-1 $\beta$ (pg/ml)	IFN $\gamma$ (pg/ml)
Nur Zellen	27 = 2	40 = 0	82 = 12
Zellen + Stimulus im Vehikel	8889 = 195	1408 = 165	1881 = 114
CBD 0,1 $\mu$ g/ml	2959 = 434	621 = 82	2062 = 316
CBD 1 $\mu$ g/ml	2503 = 181	671 = 74	1082 = 75
CBD 2,5 $\mu$ g/ml	3071 = 296	630 = 81	1171 = 138
CBD 5 $\mu$ g/ml	4152 = 499	908 = 99	791 = 121
CBD 10 $\mu$ g/ml	10964 = 1714	1575 = 335	150 = 43
CBD 20 $\mu$ g/ml	15071 = 2594	2292 = 251	ND
CBD 30 $\mu$ g/ml	20824 = 1046	4158 = 313	ND

Tabelle 3

**[0042]** Humane PBMC wurden mit oder ohne CBD in Kultur gehalten und stimuliert, wie in Materials und Methods beschrieben wird. Der Stimulus für die Produktion von TNF und IL-1 war LPS, der Stimulus für die Produktion von IFN $\gamma$  war PHA. Die Resultate sind der Mittelwert von drei Nöpfchen  $\pm$  SEM. ND = nicht ausgeführt.

### Beispiel 4

In vivo Studien der Wirkung von CBD

Auslösung und Überwachung von Collagen-induzierter Arthritis

**[0043]** Bovines Typ II Collagen (CII) wurde aus hyalinem Knorpel gereinigt, wie beschrieben [Williams, 1992]. Männliche DBA/I Mäuse (8 – 12 Wochen alt) wurden immunisiert mit 100  $\mu$ g CII, emulgiert in "colplete

Freund's adjuvant" CFA (Difco, Detroit, MI), durch intradermale Injektion in die Schwanzwurzel. Vom fünfzehnten Tag nach der Immunisierung an wurden die Mäuse täglich auf das Einsetzen von CIA untersucht, unter Verwendung von zwei klinischen Parametern: Schwellung der Pfoten und klinische Punktzahl [Williams PNAS, Band 89, Seiten 97848]. Die Schwellung der Pfoten wurde bewertet durch Messung der Dicke der betroffenen hinteren Pfoten mit 0 – 10 mm Lehren (Kroeplin, Schlüchtern, Deutschland). Für die klinischen Punktzahlen: 0 = normal, 1 = leichte Schwellung und Erytheme, 2 = ausgeprägte Ödeme, 3 = Gelenkstarre. Es wurde jede Extremität bewertet, was zu einer maximalen klinischen Punktzahl von 12 pro Tier führte. Die Arthritis wurde 10 Tage lang verfolgt, wonach die Mäuse geopfert wurden.

**[0044]** Für die chronischen Experimente wurden 6 Wochen alte Mäuse mit Mäuse CII immunisiert (100 µg CII i. d. = intradermal). Vom dreißigsten Tag nach der Immunisierung an entwickelten die Mäuse eine chronisch wiederkehrende Arthritis, die auf die gleiche Weise wie oben beschrieben 5 Wochen lang verfolgt wurde.

#### Verabreichung von Cannabidiol

**[0045]** Die Behandlung mit Cannabidiol (CBD) begann mit dem Einsetzen der Erkrankung und wurde i. p. täglich verabreicht, bis Tag 10 der Arthritis, im akuten Arthritis-Modell mit bovinem CII. Die verwendeten Konzentrationen von CBD betragen 20 mg/kg (n = 17), 5 mg/kg (n = 15) und 2,5 mg/kg (n = 9). CBD wurde in Ethanol/Cremophor (Sigma Chemical CO., Poole, UK) (l/l, v/v) aufgelöst und weiter in Sole verdünnt. Mäuse, denen nur das Vehikel (Ethanol/Cremophor in Sole) injiziert wurde, dienten als Kontrollgruppe (n = 23).

**[0046]** Für das chronische Experiment mit Mäuse-CII wurden die Mäuse von den ersten Symptomen der Arthritis an 5 Wochen lang jeden zweiten Tag behandelt. Für den i. p.-Weg wurde CBD in Dosen von 10 mg/kg (n = 7) und 5 mg/kg (n = 7) injiziert. Wiederum dienten die Mäuse, denen nur das Vehikel injiziert wurde, als Kontrollgruppe (n = 7). Für den oralen Weg wurde das Medikament täglich in einer Dosis von 25 mg/kg (n = 6) verabreicht, und die Kontroll-Mäuse wurden mit Olivenöl gefüttert (n = 6).

**[0047]** Für das Protokoll der oralen Behandlung im akuten CIA Modell wurde CBD in Olivenöl aufgelöst und vom Einsetzen der Arthritis an 10 Tage lang jeden Tag durch Sondenfütterung verabreicht. Die verwendeten Dosen waren 10 mg/kg, 25 mg/kg und 50 mg/kg (n = 6 pro Gruppe), entsprechend 2, 5 bzw. 10 mg/kg i. p. Die Kontroll-Mäuse wurden mit Olivenöl gefüttert (n = 6).

#### Histologische Analyse

**[0048]** Die hinteren Pfoten und Kniegelenke wurden post mortem am zehnten Tag der Arthritis entfernt, in Formalin fixiert und in 5 % EDTA entkalkt. Die Pfoten und Knie wurden dann in Paraffin eingebettet, sektioniert und mit Hämatoxylin und Eosin gebeizt. Die arthritischen Veränderungen im Sprunggelenk, den Grundgelenken und den proximalen und distalen Interphalangealgelenken wurden blind bewertet als "mild" (milde synoviale Hyperplasie), "mäßig" (Pannusbildung und auf die Grenze zwischen Knorpel und Pannus begrenzte Erosionen) oder "schwer" (= ausgedehnte Knochen- und Knorpelerosionen mit Verlust der Gelenkarchitektur).

#### Resultate

##### CBD hat einen dosisabhängigen therapeutischen Effekt auf CIA

**[0049]** Sowohl bei der Dosis von 20 mg/kg als auch bei der Dosis von 10 mg/kg hatte CBD einen leichten therapeutischen Effekt auf CIA, insbesondere auf die klinische Punktzahl ([Fig. 1](#)). Der günstige Effekt von 10 mg/kg schien besser zu sein als der von 20 mg/kg, insbesondere während der ersten paar Tage der Behandlung ([Fig. 1](#)). Es wurde deshalb entschieden, die Dosis von CBD auf 5 mg/kg zu verringern. Diese Konzentration führte zu einer dramatischen Unterdrückung des weiteren Verlaufs der CIA, bewertet sowohl anhand der klinischen Punktzahl ([Fig. 1](#)) als auch anhand der Pfortendicke ([Fig. 2](#)). Bei weiterer Verringerung der Konzentration auf 2,5 mg/kg ([Fig. 1](#) und [Fig. 2](#)) ging die therapeutische Wirkung von CBD verloren. Bei dieser niedrigen Dosis wurde überhaupt kein Effekt von CBD auf den Verlauf der klinischen Arthritis festgestellt, bewertet anhand der klinischen Punktzahl und der Pfortendicke ([Fig. 1](#) und [Fig. 2](#)).

**[0050]** Die dosisabhängigen Wirkungen von CBD wurden im chronischen CIA-Modell bestätigt ([Fig. 4](#)). Es wurde festgestellt, daß 5 mg/kg für die Unterdrückung der Arthritis optimal waren. Die Fläche unter der Kurve (AUC) betrug 28,9, im Vergleich zu 38,4 bei der Kontrollgruppe. 10 mg/kg waren weniger wirksam als 5 mg/kg.

Orale Verabreichung von CBD hat einen ähnlichen therapeutischen Effekt auf entwickelte und chronische Arthritis

**[0051]** Tägliche orale Sondenfütterung mit CBD nach dem Einsetzen der Arthritis führte zu einer adäquaten Unterdrückung der Arthritis ([Fig. 5](#)). Wiederum waren 25 mg/kg (entsprechend 5 mg/kg i. p.) die optimale Dosis.

**[0052]** [Fig. 6](#) zeigt, daß orale Verabreichung von 25 mg/kg CBD zu einer Unterdrückung des Fortschreitens von chronischer CIA führte. Die Fläche unter der Kuve (AUC) nahm von 72,3 für die Kontrollgruppe auf 49,7 für die behandelten Tiere ab.

Histologische Daten bestätigen die klinischen Resultate

**[0053]** Gelenke in den hinteren Pfoten von Kontrollmäusen und Mäusen, die mit CBD, 5 mg/kg und 10 mg/kg, behandelt waren, wurden blind auf Hyperplasie und Zerstörung bewertet. Bei den Kontrollmäusen wurden keine normalen Gelenke gefunden, während 11 % der Gelenke von Mäusen, die mit 10 mg/kg CBD behandelt worden waren und 33 % der Gelenke von Mäusen, die mit 5 mg/kg CBD behandelt worden waren, vollständig geschützt waren ([Fig. 3](#)). 69 % aller Gelenke bei den Kontrollmäusen waren mäßig oder schwer geschädigt. Bei den mit 5 mg/kg CBD behandelten Mäusen nahm dies auf 42 % ab. Somit bestätigen die histologischen Befunde die klinischen Resultate, wonach CBD, bei 5 mg/kg/Tag einen deutlichen therapeutischen Effekt auf CIA hat.

#### Beispiel 5

Unterdrückung von autoimmuner Enzephalomyelitis (EAE) durch Cannabidiol bei S3L-Mäusen

**[0054]** Die Wirkung von Cannabidiol auf EAE wurde untersucht. EAE ähnelt dem Krankheitsbild von menschlicher multipler Sklerose (MS) und akut disseminierender Enzephalomyelitis.

**[0055]** Die verwendeten Methoden basierten auf denjenigen von Lehmann, D et al. J. Neuroimmunology, Band 50, Seiten 35 – 42, 1994.

#### Tiere

**[0056]** 6 – 12 Wochen alte weibliche SJL/J-Mäuse wurden vom Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME) bezogen und unter Standardbedingungen in Käfigen mit Deckenfiltern gehalten. Alle Tiere wurden mit einer regulären Diät gefüttert und erhielten angesäuertes Wasser ohne Antibiotika.

#### Antigene

**[0057]** Homogenat aus dem Rückenmark von Mäusen (MSCH) wurde wie folgt gewonnen. Das Rückenmark von 3 – 10 Monate alten Mäusen verschiedener Stämme wurde durch Ausblasen gewonnen, MSCH wurde hergestellt durch Homogenisierung in PBS (1 : 1 v/v). Das Homogenat wurde lyophilisiert, in PBS wieder auf eine Konzentration von 100 mg/ml (Trockengewicht) eingestellt und bis zum Gebrauch bei –20° C gelagert.

**[0058]** Tuberkulin-gereinigtes Proteinderivat (PPD) wurde von Statens Serum Institut, Kopenhagen, Dänemark, bezogen.

#### Induktion und klinische Bewertung von EAE

**[0059]** Die Induktion von akuter EAE in Mäusen basierte auf einer Modifikation des Verfahrens von Bernard (Bernard et al, 1976). Kurz gefaßt wurden gleiche Volumen von MSCH (100 mg/ml in PBS) und CFA, angereichert mit Mycobakterium tuberculosis H37Ra (6mg/ml) (Difco Laboratories, Detroit, MI) emulgiert. Die Emulsion (50 – 100 µl) wurde s.c. (subcutan) in die vier Fußsohlen jeder Maus verabreicht. Sofort danach und zwei Tage später wurde den Mäusen Pertussigen i. v. (intravenös) injiziert. Alle Tiere wurden täglich auf Anzeichen für Erkrankung untersucht. Die ersten klinischen Indikationen traten am Tag 9 – 11 nach der Immunisierung auf und wurden anhand der folgenden Skala mit 6 Punkten bewertet: 0, keine Abnormalität; 1, milde Schwanzschwäche; 2, Schwanzlähmung; 3, Schwanz- und Hinterbeinlähmung; 4, Hinterbeinlähmung oder milde Schwächung der Vorderbeine; 5, Quadriplegie oder moribunder Zustand; 6, Tod.

**[0060]** Mäuse wurden mit Cannabidiol mit einer Dosis von 10 mg/kg behandelt. Die Resultate sind in [Fig. 7](#) und Tabelle 4 gezeigt.

Tabelle 4

	KONTROLGRUPPE	CBD
Auftreten	4/6	2/6
Dauer (Tage)	4,66	2,16
Mittlere maximale Punktzahl	2	1

**[0061]** Die Resultate zeigen, daß Cannabidiol EAE in Mäusen deutlich unterdrückt.

## Beispiel 6

Wirkung von CBD auf Pegel von TNF $\alpha$  im Serum

**[0062]** [Fig. 8](#) zeigt, daß CBD bei 10 mg/kg die Produktion von TNF $\alpha$  im Serum bei mit LPS gereizten Mäusen verringert.

## Beispiel 7

## Die Wirkung von Cannabidiol auf die Proliferation und Funktion von T- und B-Zellen

## Mäuse und Tumor Zell-Linien und Medium

**[0063]** Weibliche Mäuse (8 – 12 Wochen alt) der Stämme C57BL/6 (B6, H-2<sup>b</sup>) und BALB/c (H-2<sup>d</sup>) wurden von Harlan, Jerusalem, bezogen und in Übereinstimmung mit den Richtlinien der Hebrew University unter spezifischen pathogenfreien Bedingungen (SPF) in der Tierstation der Hebrew University Medical School, Jerusalem, gehalten. DMEM (Biological Industries, Beit Haemek, Israel) wurde mit 1 mM Natriumpyruvat, 10 mM HEPS-Puffer, 0,5 mM Asparagin-HCL, 0,03 mM Filicinsäure (filic acid), 0,5 mM L-Aspartansäure,  $5 \times 10^{-5}$  M 2-Mercaptoethanol, 2 mM Glutamin, Antibiotika und 10% FCS ergänzt (vollständiges DMEM).

## Mitogen-induzierte Zellproliferation

**[0064]** Milzzellen, mit einer Endkonzentration von  $5 \times 10^6$  Zellen/ml wurden in dreifachen Näpfchen von Mikrotitrierplatten mit flachem Boden (Nunc, Dänemark), nur im Medium, in 2,5  $\mu$ g/ml Concanavalin A (ConA, Biomakor, Israel) oder in 50  $\mu$ g/ml Lipopolysaccharid (LPS, Difco) gezüchtet. Das Endvolumen betrug 200  $\mu$ l/Napf. Nach zweitägiger Inkubation bei 37° C in einem 8% CO<sub>2</sub>-in-Luft Inkubator (wie in allen anderen hier beschriebenen Prozeduren) wurden 1  $\mu$ Ci <sup>3</sup>H-Thymidin zu jedem Napf zugegeben. Die Zellen wurden 6 Stunden später geerntet, mit einem Tomtec (USA) Cell-Harvester, und in einem MicroBeta Scintillationszähler (Wallac, Finnland) gezählt.

## Gemischte Leukozytenreaction (MLR)

**[0065]** Milzzellen ( $1 \times 10^6$ /Napf) wurden in dreifachen Näpfchen von Tritrierplatten mit flachem Boden (Nunc) parallel gezüchtet, mit einer gleichen Anzahl von bestrahlten (25 cGy) syngenen oder allogenen Splenocyten in einem Endvolumen von 200  $\mu$ l/Napf. Nach dreitägiger Inkubation wurden die Zellen mit <sup>3</sup>H-Thymidin markiert

(1  $\mu$ Ci/Napf) und geerntet, mit nachfolgender zusätzlicher Inkubation über 18 Stunden, wie oben beschrieben.

#### Gemischte Leukozytenkultur (MLC)

**[0066]** MHC-beschränkte CTL wurden in MLC aktiviert, durch Co-Kultur von  $2,5 \times 10^6$  reagierenden Milzzellen 5 Tage lang mit einer gleichen Anzahl von bestrahlten (25 Gy) allogenen Splenocyten in 2 ml/Napf des vollständigen DMEM in Platten mit 24 Nöpfen (Costar).

#### Zelluläre Cytotoxizität

**[0067]** Es wurden cytotoxische Untersuchungen ausgeführt, wie zuvor beschrieben wurde (Leshem et al, 1999). Kurz gefaßt wurden Effektorzellen in dreifachen Nöpfchen von Mikroplatten mit konischem Boden (Nune) seriell (dreifach) verdünnt und mit gewaschenen, mit  $^{51}\text{Cr}$  markierten Targetzellen zu einem Endvolumen von 200  $\mu$ l gemischt, um Effektor/Target-Zellverhältnisse von 4 – 6 einzustellen. Die Mikroplatten wurden zentrifugiert (70  $\times$  g, 2 Min.) und 4 Stunden lang inkubiert. Sie wurden dann 5 Minuten lang bei 200  $\times$  g zentrifugiert, und die Überstände (150  $\mu$ l) wurden in einem automatischen c-Zähler (LKB-Wallac, Finnland) gezählt. Die Prozentsätze der spezifischen cytotoxischen Aktivität wurden nach der folgenden Formel berechnet: [(experimentelle cpm – Hintergrund cpm)/(maximale cpm – Hintergrund – cpm)  $\times$  100]. Lytische Einheiten (LU) wurden aus der bei 4 – 6 E:T Zellverhältnissen gemessenen Cytotoxizität abgeleitet. Eine LU ist definiert als die Anzahl von Effektorzellen, die eine Lysis von 30 % der Targetzellen verursachen (Leshem und Brass, 1998).

**[0068]** [Fig. 9a](#) und [Fig. 9b](#) zeigen, daß CBD die Antwort von BALB/C Splenocyten bzw. C57BL/b Spenozyten auf die Reizung mit Concanavalin A (ConA) und LPS verringert.

**[0069]** Die Wirkung von CBD auf MLR und zelluläre Cytotoxizität ist in [Fig. 10](#) bzw. 11 gezeigt. Eine leichte Abnahme in der  $^3\text{H}$ -Thymidin-Aufnahme wurde oberhalb von 4  $\mu$ g/ml CBD beobachtet. [Fig. 11](#) zeigt, daß niedrige Konzentrationen von CBD die Cytotoxizität erhöhen, oberhalb von etwa 1  $\mu$ g/ml CBD wurde jedoch eine Abnahme der Cytotoxizität beobachtet.

#### Beispiel 8

Die Produktion von Reaktiver-Sauerstoff-Intermediation (ROI) durch Granulozyten wird durch CBD blockiert

**[0070]** Mit Thioglycollat angelockte Granulozyten wurden aus C57BL/6-Mäusen durch steriles Waschen mit PBS 18 Stunden nach intraperitonealer Injektion von 1,5 ml Thioglycollat Medium (1,5 ml in 3 % Lösung) geerntet. Die Zellen wurden gewaschen und mit  $5 \times 10^5$  Zellen/ml in Hanks' gepufferter Salzlösung ohne Phenol-Rot resuspendiert und mit 0,5 ml/Röhrchen auf Luminometer-Kunststoffröhrchen verteilt. CBD, das mit einer Konzentration von 6  $\mu$ g/ml in Ethanol und Medium aufgelöst war, wurde zu einigen Röhrchen zugegeben, und schließlich wurden Luminol 10  $\mu$ l und Zymosan von 30  $\mu$ l für 0,1 oder 2 Stunden zugegeben. Das Röhrchen wurde in ein Luminometer eingesetzt (Biolumate LB 95 oot Berthold Wildbad, Deutschland), das auf 37° C vorerwärmt worden war. Die durch Luminol gesteigerte Chemilumineszenz-Reaktion der Granulozyten auf Zymosan wurde als positive Kontrolle betrachtet.

**[0071]** Alle Zellen waren am Ende des Experiments brauchbar. CBD blockierte 45 – 92° des beobachteten Chemilumineszenzpeaks.

Tabelle 5

Produktion von ROI durch Granulozyten aus C57BL/6-Mäusen, geprüft durch Chemilumineszenz

<b>Behandlung</b>	<b>Chemilumineszenz Computerpeak</b>	<b>% Blockierung</b>
Granulozyten (Kontrolle)	300	
Granulozyten + Zymosan	1868	
Granulozyten + Zymosan + CBD 6 µg/ml ( 0 Std.)	1024	45
Granulozyten + Zymosan + CBD 5 µg/ml ( 1 Std.)	157	92
Granulozyten + Zymosan + CBD 6 µg/ml ( 2 Std.)	235	87

**[0072]** Die Granulozyten-Zellen wurden 0 – 2 Stunden vor Ausführung des ROI-Tests mit 6 µg/ml CBD vorbehandelt. Nach 1 – 2 Stunden der CBD-Behandlung waren die Zellen zu etwa 100 % verfügbar.

#### Beispiel 9

Die Wirkung von CBD auf die Freisetzung von TNF und Cytokinen aus rheumatoiden Synovialzellen

#### Kultur von menschlichem rheumatoiden Synovialzellen

**[0073]** Synoviales Membrangewebe wurde von einem Patienten erhalten, der die revidierten Kriterien des American College of Rheumatology für rheumatoide Arthritis erfüllte und eine Gelenkprothese erhalten hatte. Die synovialen Zellkulturen wurden wie beschrieben vorbereitet. Kurz gefaßt wurde das synoviale Membrangewebe mit Collagenase Typ A (1 mg/ml) und DNAase I (0,15 mg/ml) in RPMI 1640, die 5 % FCS enthielt, 2 Stunden lang bei 37° C verdaut. Das verdaute Gewebe wurde durch ein 200 µm<sup>2</sup> Nylonsieb gedrückt und zu 10<sup>6</sup> Zellen/ml/Näpfchen in RPMI 1640, ergänzt mit 10% FCS, 2mM L-Glutamin und Antibiotika, in Kulturplatten mit 24 Näpfchen bei 37° C in 5% CO<sub>2</sub> 48 Stunden lang im vollständigen Medium mit oder ohne CBD mit spezifizierten Konzentrationen gezüchtet.

#### Kultur von Mäuse-Synovialzellen

**[0074]** DBA/I-Mäuse, die wie oben beschrieben mit bovinem CII in CFA immunisiert worden waren, um CIA zu induzieren, wurden am Tag 10 der Arthritis geopfert, und die Kniegelenke wurden entfernt. Synoviale Zellkulturen wurden hergestellt, wie zuvor beschrieben wurde. Kurz gefaßt, wurden die synovialen Membranen unter einem Seziernmikroskop herausgetrennt und in Gegenwart von Polymyxin B (33 µg/ml) (Sigma) 20 Minuten lang bei 37° C mit Collagenase A (1 mg/ml) (Boehringer-Mannheim) und DNAase Typ IV (0,15 mg/ml) (Sigma, Dorset, UK) verdaut. Die Zellen wurden dann ausgiebig gewaschen und in Platten mit 96 Näpfchen bei einer Dichte von 2 × 10<sup>6</sup> Zellen/ml (100 µl/Napf) im vollständigen Medium mit oder ohne CBD mit spezifizierten Konzentrationen gezüchtet. Die Überstände wurden nach 24 Stunden gesammelt und bis zur Messung auf Cytokine bei -20° C gelagert.

CBD unterdrückt die spontane Freisetzung von TNF durch das Synovium aus arthritischen Tieren

**[0075]** Es ist bekannt, daß Synovialzellen aus arthritischen Mäusen am Tag 10 spontan große Mengen an TNF produzieren, wenn sie in vitro gezüchtet werden. Es zeigte sich, daß CBD, wenn es zu den in vitro Kulturen zugegeben wurde, eine dosisabhängige Unterdrückung der Freisetzung von TNF hervorrief (Tabelle 6).

Die Wirkung von CBD auf die Freisetzung von Cytokinen durch menschliches rheumatoides Synovium

**[0076]** Ähnlich produzieren rheumatoide Synovialzellen spontan Cytokine, wenn sie in vitro gezüchtet werden. Tabelle 7 zeigt die Wirkungen von CBD auf die Freisetzung verschiedener Cytokine, gemessen mit ELISA. Wir fanden eine dosisabhängige Blockade von IL-6, IL-8, IL-10 und IL-11. Bei diesem ersten initialen Experiment wurde TNF $\alpha$  nicht unterdrückt, was nicht mit den Resultaten für Mäuse übereinstimmt. Bei der begrenzten Anzahl humaner Synovialzellen in dieser Probe mag die optimale Dosis für die Blockade von TNF $\alpha$  verfehlt worden sein.

Tabelle 6

In Synovialzellen von Mäusen wird TNF $\alpha$  durch CBD blockiert

	O.D.	TNF (pg/ml)
Synovialzellen (SC)	0,183 $\pm$ 0,003	>1000
SC + Vehikel	0,181 $\pm$ 0,004	>1000
CBD 1 $\mu$ g/ml	0,190 $\pm$ 0,003	>1000
CBD 2,5 $\mu$ g/ml	0,193 $\pm$ 0,004	>1000
CBD 5 $\mu$ g/ml	0,422 $\pm$ 0,251	100
CBD 10 $\mu$ g/ml	0,922 $\pm$ 0,103	2
CBD 20 $\mu$ g/ml	1,152 $\pm$ 0,117	<0,01
CBD 50 $\mu$ g/ml	1,163 $\pm$ 0,119	<0,01

**[0077]** Es wurde eine Nüpfchen-Untersuchung auf Cytotoxizität verwendet.

Tabelle 7

Die Produktion von Cytokinen durch menschliche rheumatoide Synovialzellen wird durch CBD reguliert

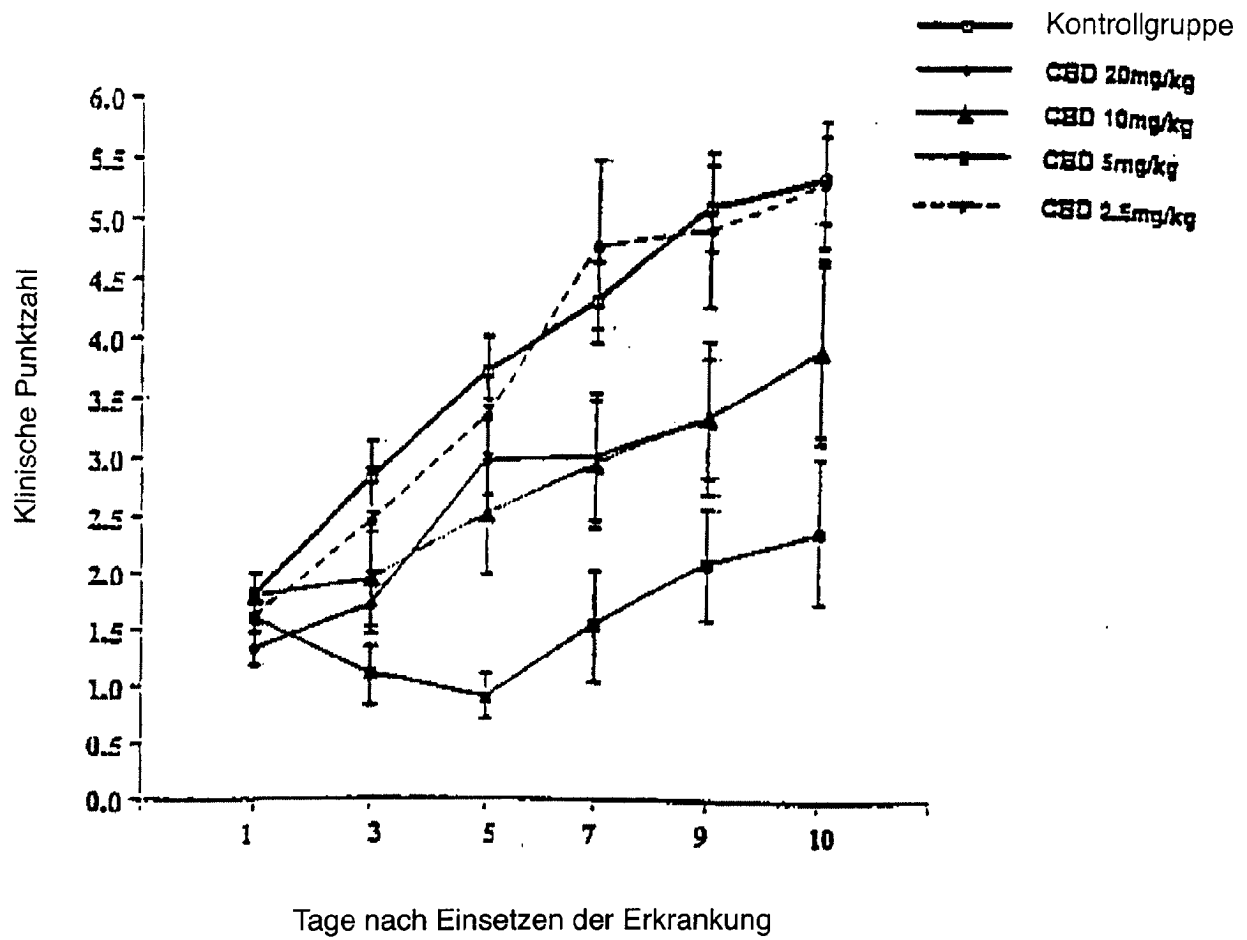
Medikament- dosis	TNF pg/ml		IL-6 ng/ml		IL-8 ng/ml		IL-10 pg/ml		IL-11 pg/ml	
	mittel	sd	mittel	sd	mittel	sd	mittel	sd	mittel	sd
Nil.	2064	184	304	87	175	78	256	54	2139	70
20 µg/ml	2271	121	125	26	87	34	52	12	100	1
1 µg/ml	2089	783	326	51	183	61	249	30	2059	216
0,1 µg/ml	1963	225	281	43	174	25	273	33	2151	168
Kontrolle (Vehikel)										
NIL	1960	94	258	105	165	53	256	24	2110	78
20 µg/ml	1818	78	322	49	224	79	272	27	1884	51
1 µg/ml	1656	319	337	70	173	43	223	5	2110	90
0,1 µg/ml	1916	54	310	21	178	48	222	19	1984	168

### Patentansprüche

1. Verwendung von Cannabidiol für die Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von rheumatoider Arthritis.
2. Verwendung von Cannabidiol für die Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von multipler Sklerose.
3. Verwendung von Cannabidiol für die Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von eiternder Colitis.
4. Verwendung von Cannabidiol für die Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Morbus Crohn.
5. Verwendung nach einem der vorstehenden Ansprüche, bei der das Cannabidiol mit der Verwendung einer zweiten entzündungshemmenden Verbindung kombiniert wird.

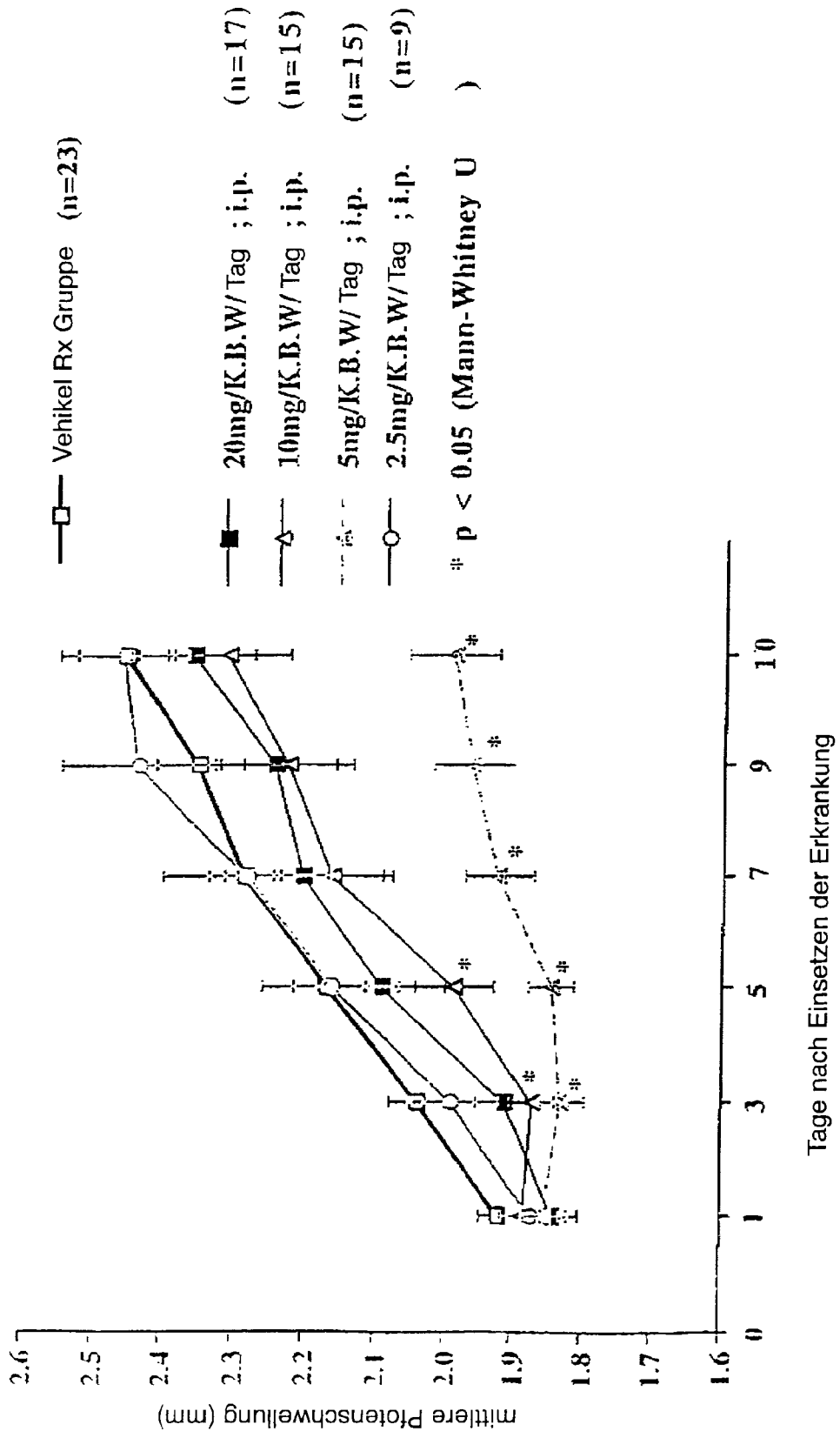
Es folgen 12 Blatt Zeichnungen

## Anhängende Zeichnungen

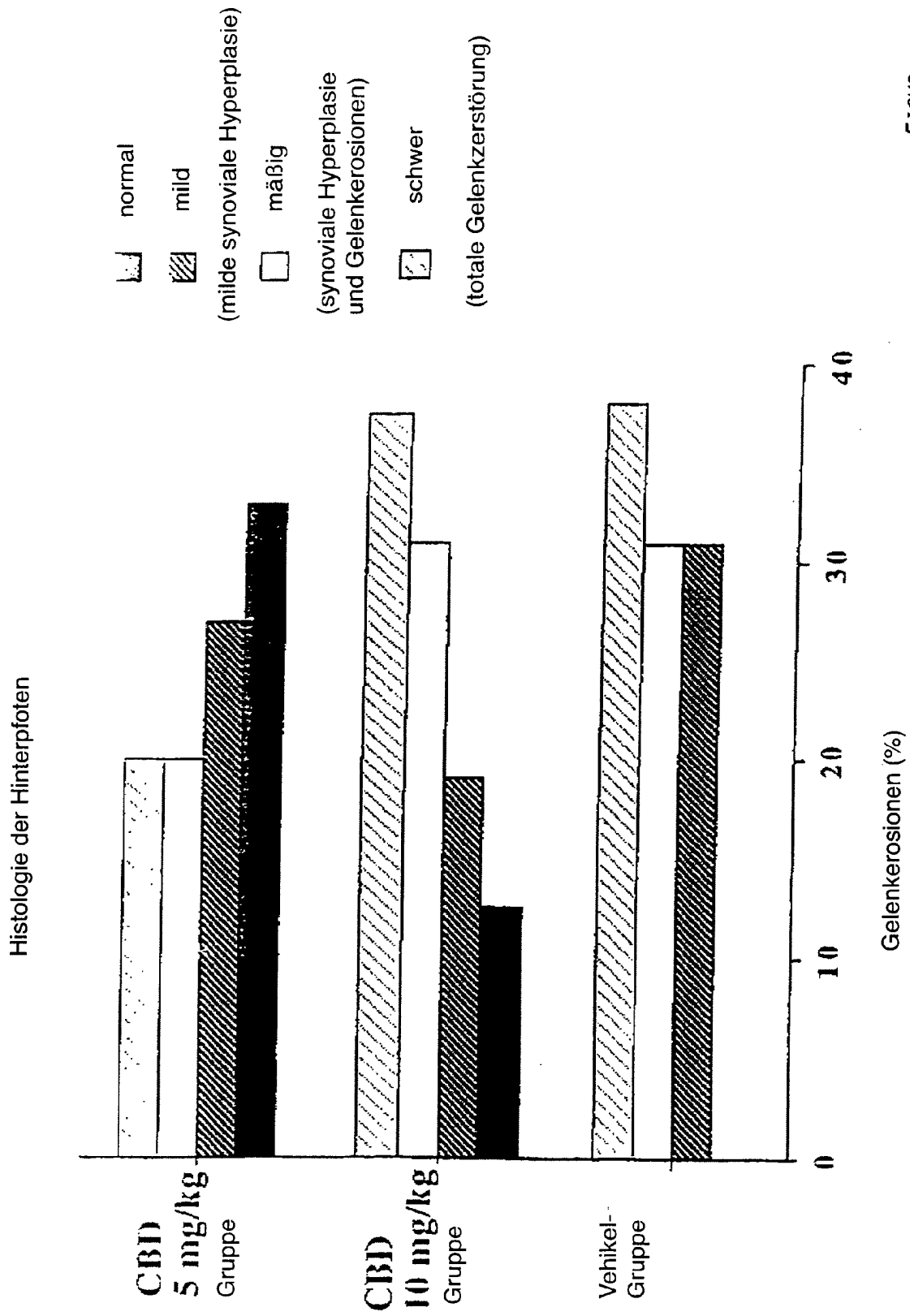


FIGUR 1

Wirkung von CBD Rx auf CIA in DBA/1-Mäusen

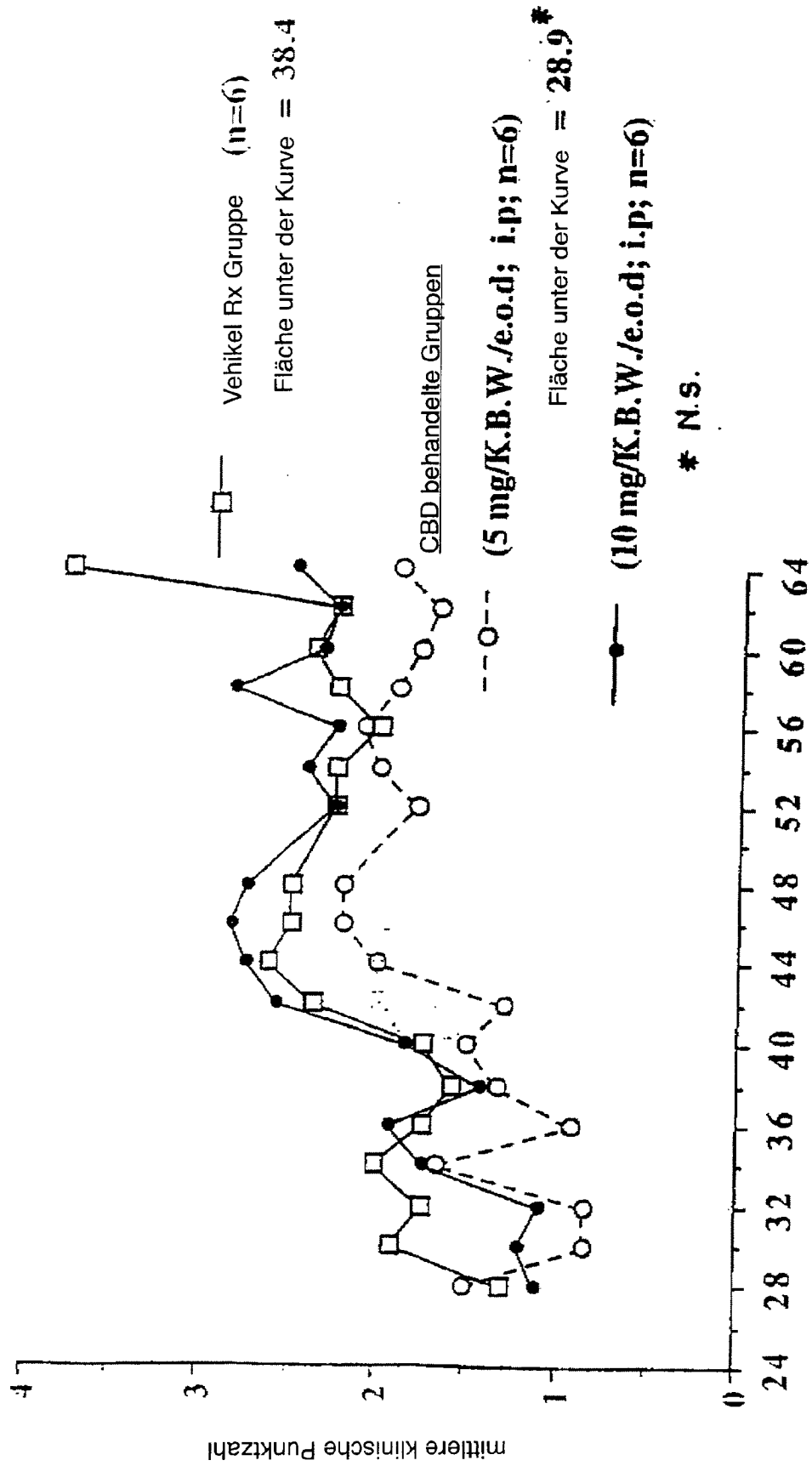


FIGUR 2



FIGUR 3

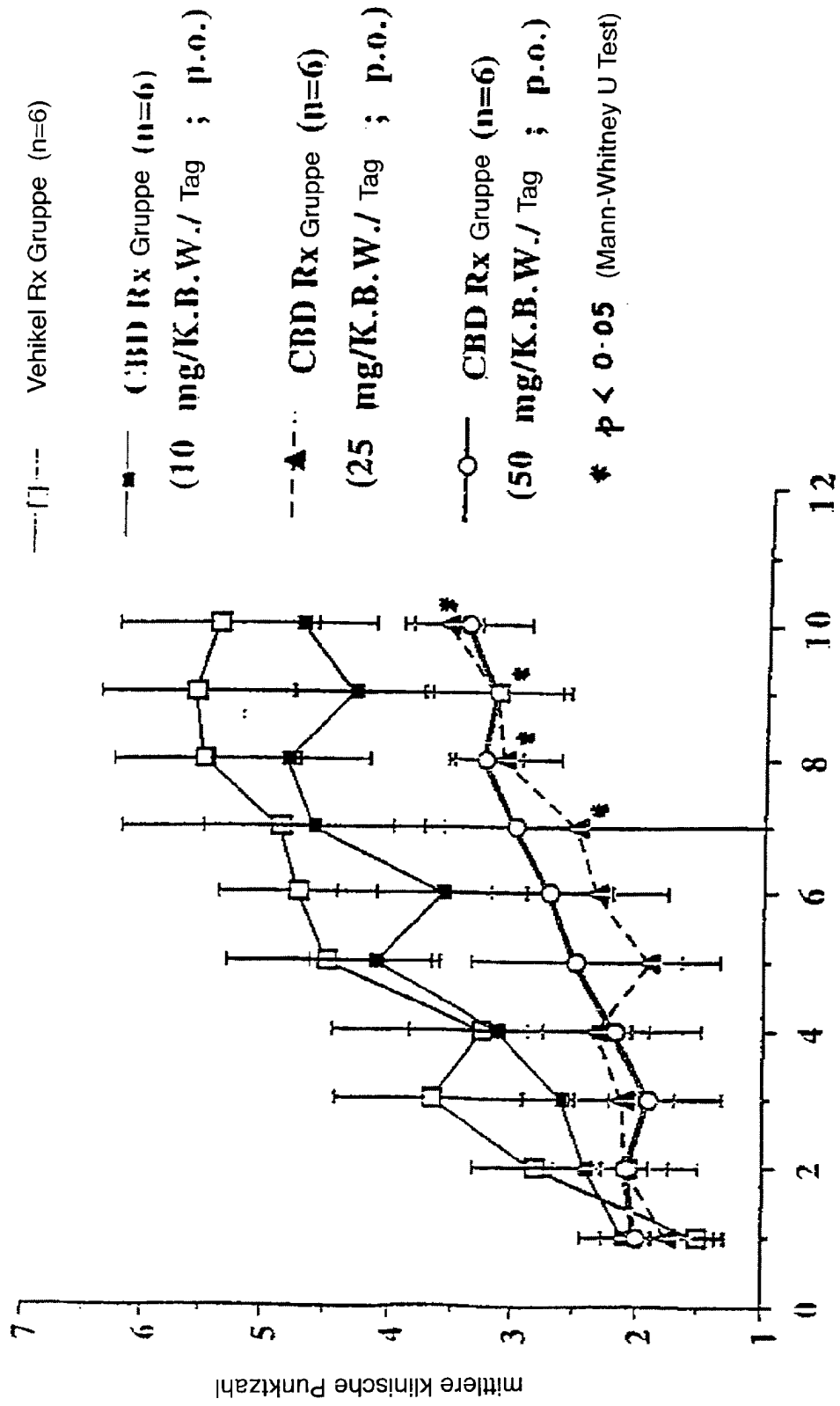
Wirkung von CBD Rx auf autochone CIA bei DBA/1-Mäusen



Tage nach Immunisierung

FIGUR 4

Wirkung von oraler Behandlung mit CBD auf CiA bei DBA/1-Mäusen

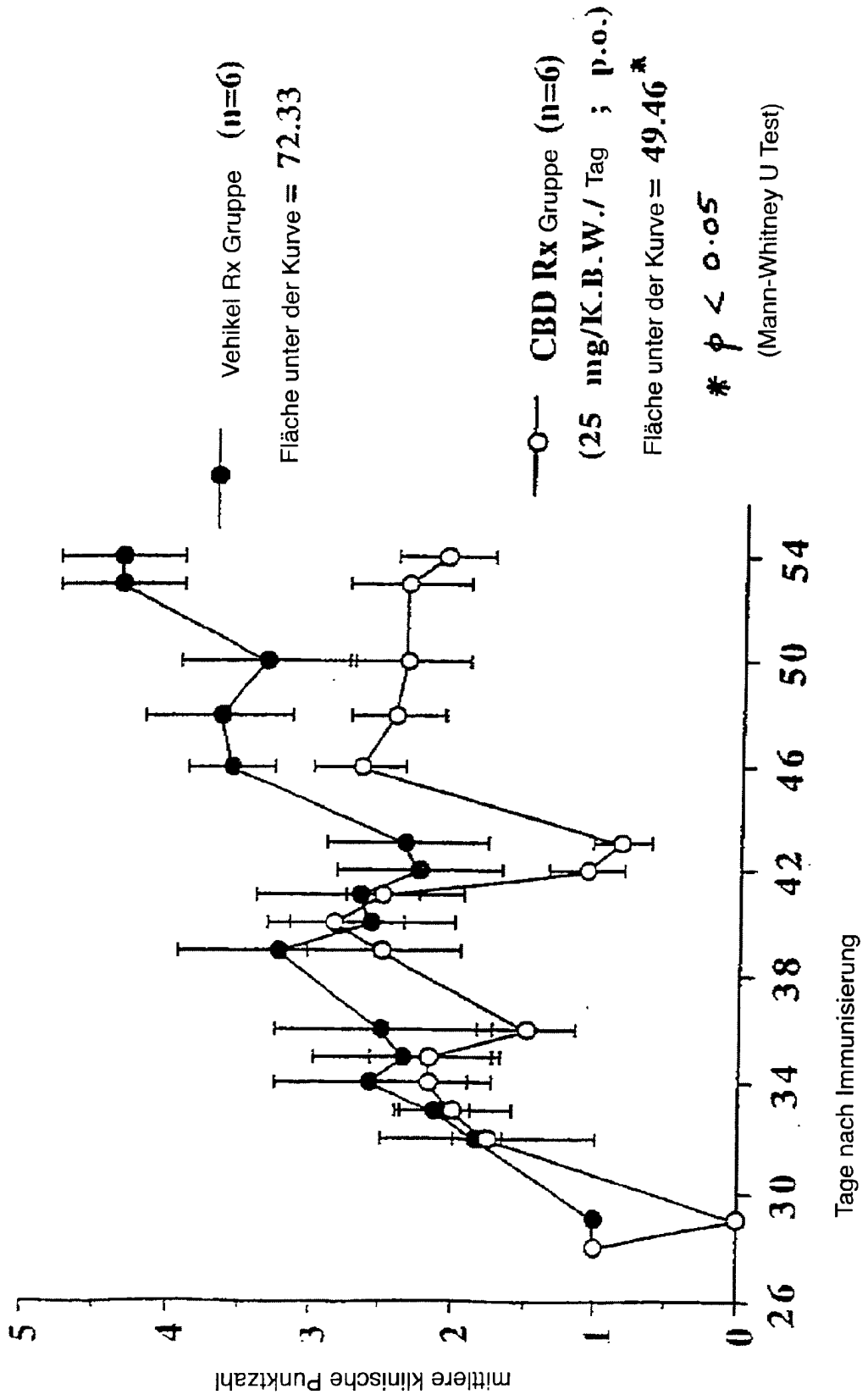


Tage nach Einsetzen der Arthritis

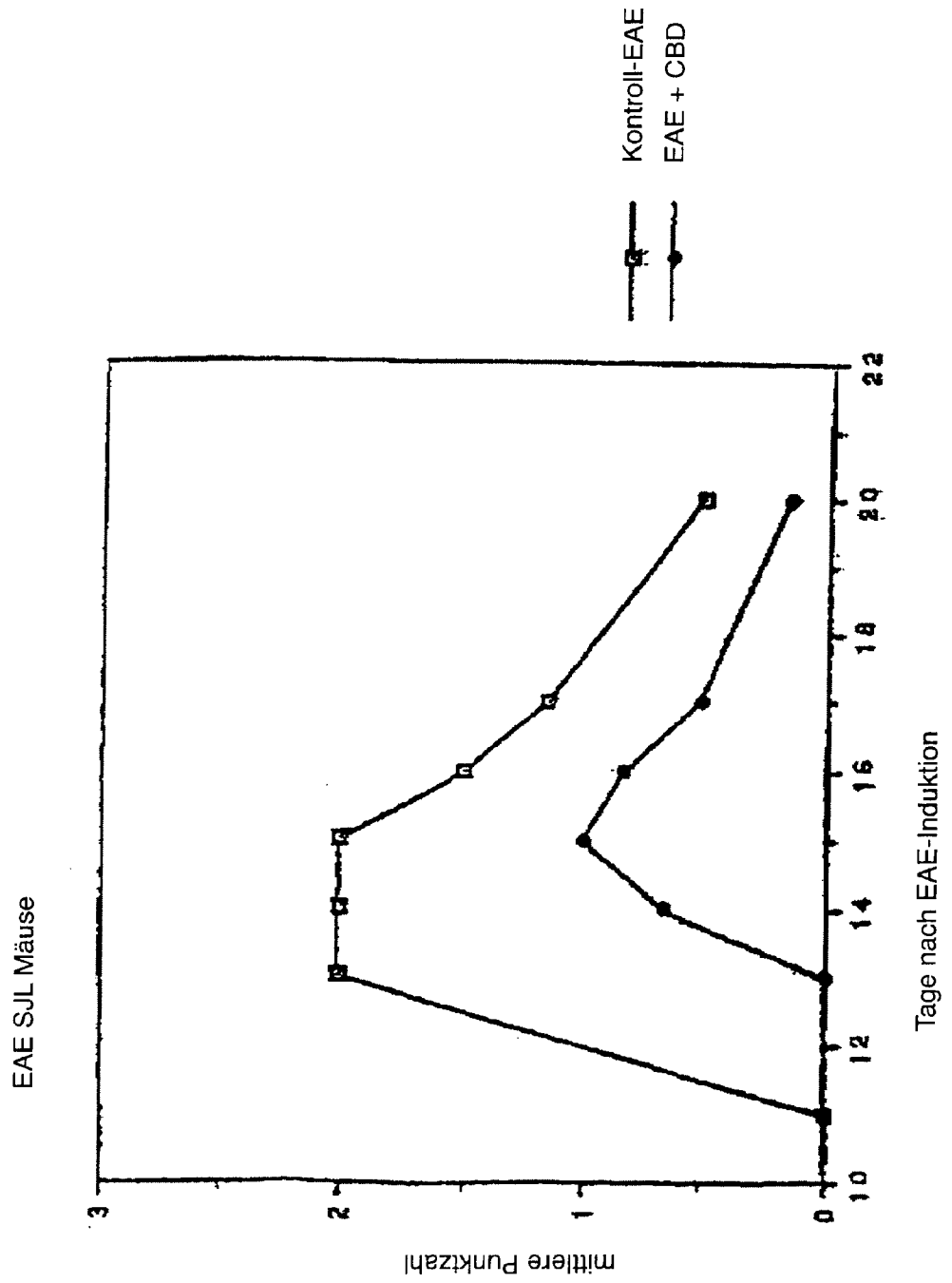
FIGUR 5

Wirkung von oraler Behandlung mit CBD auf  
 autochone CIA bei DBA/1-Mäusen

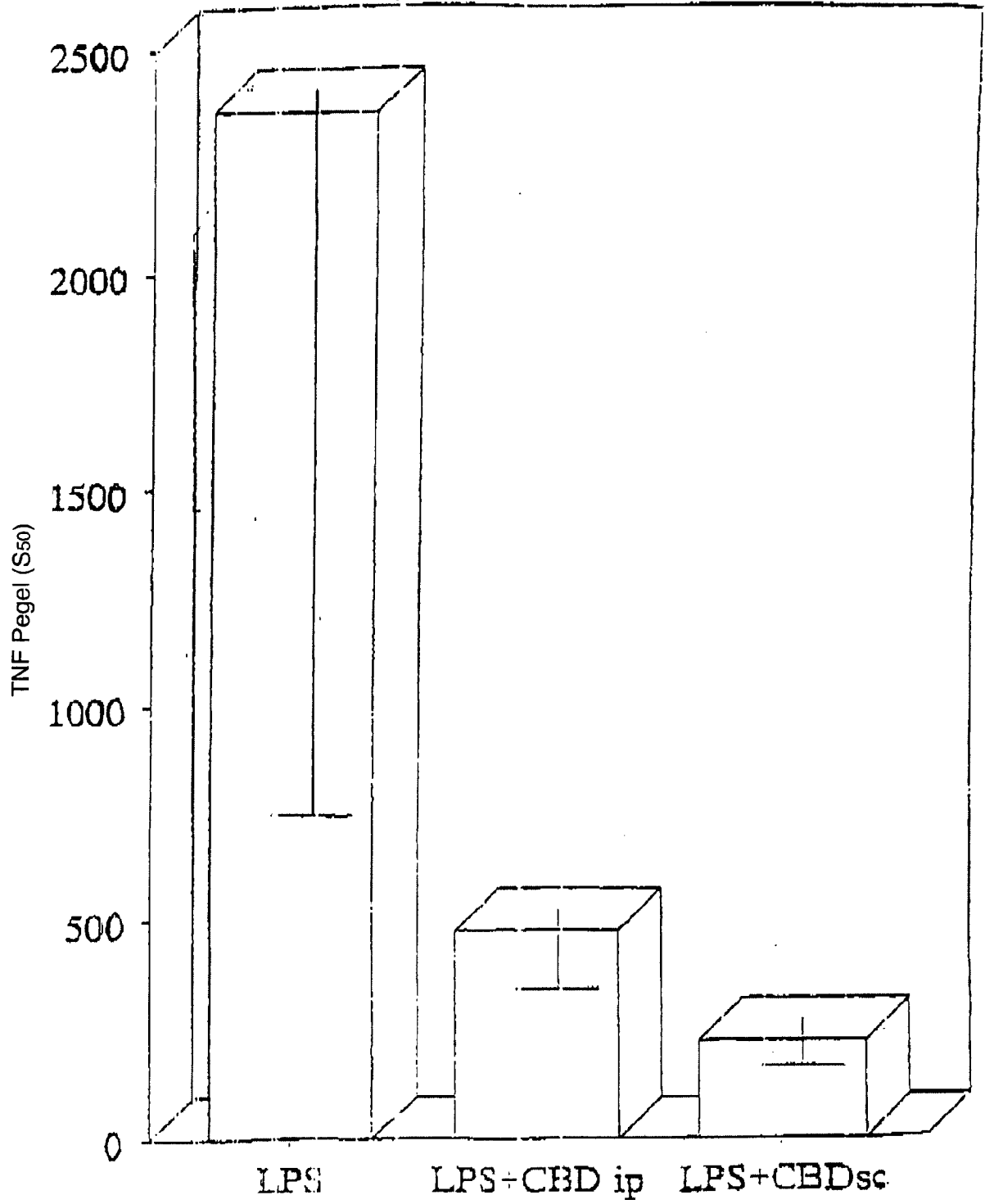
FIGUR 6



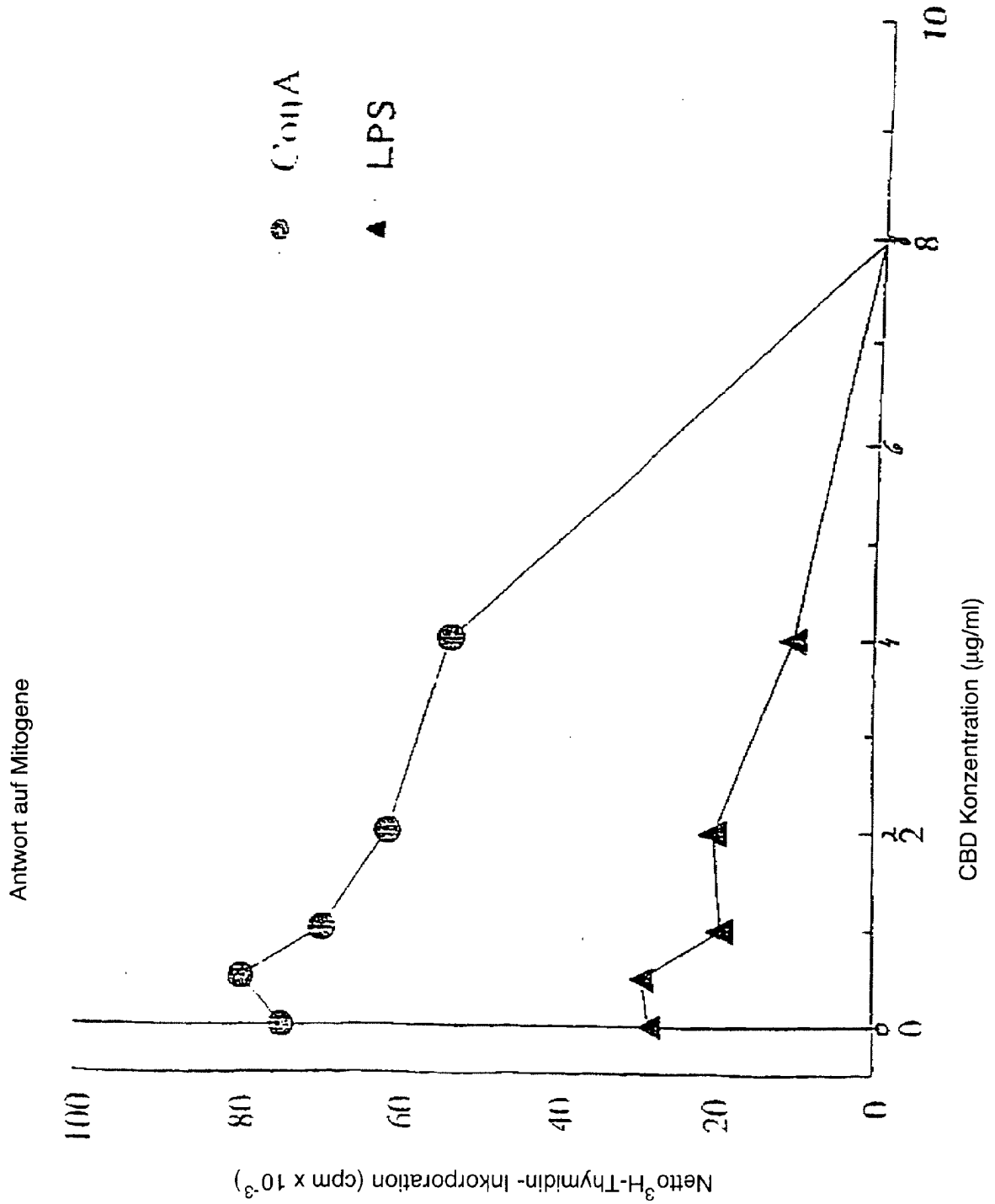
FIGUR 7

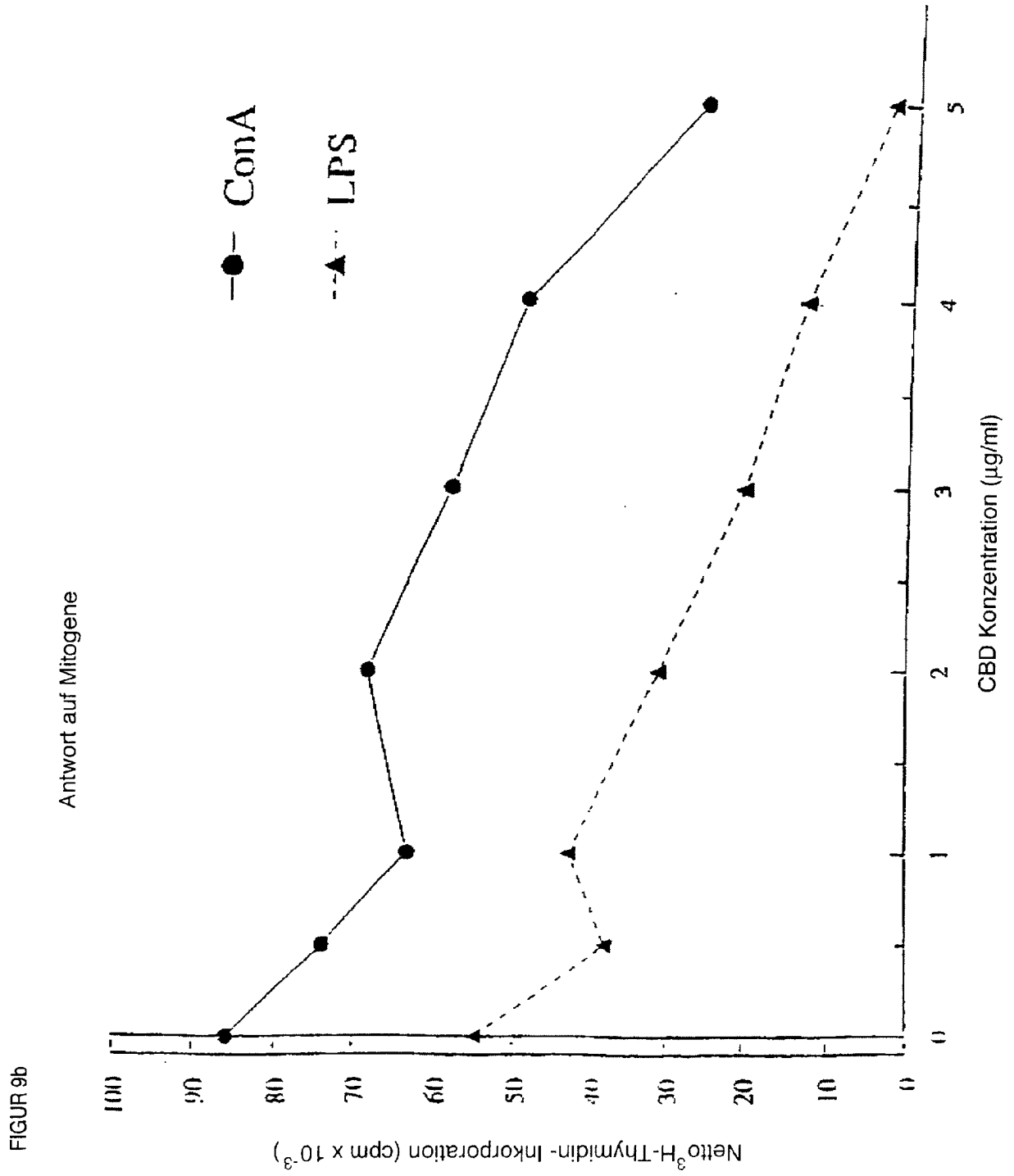


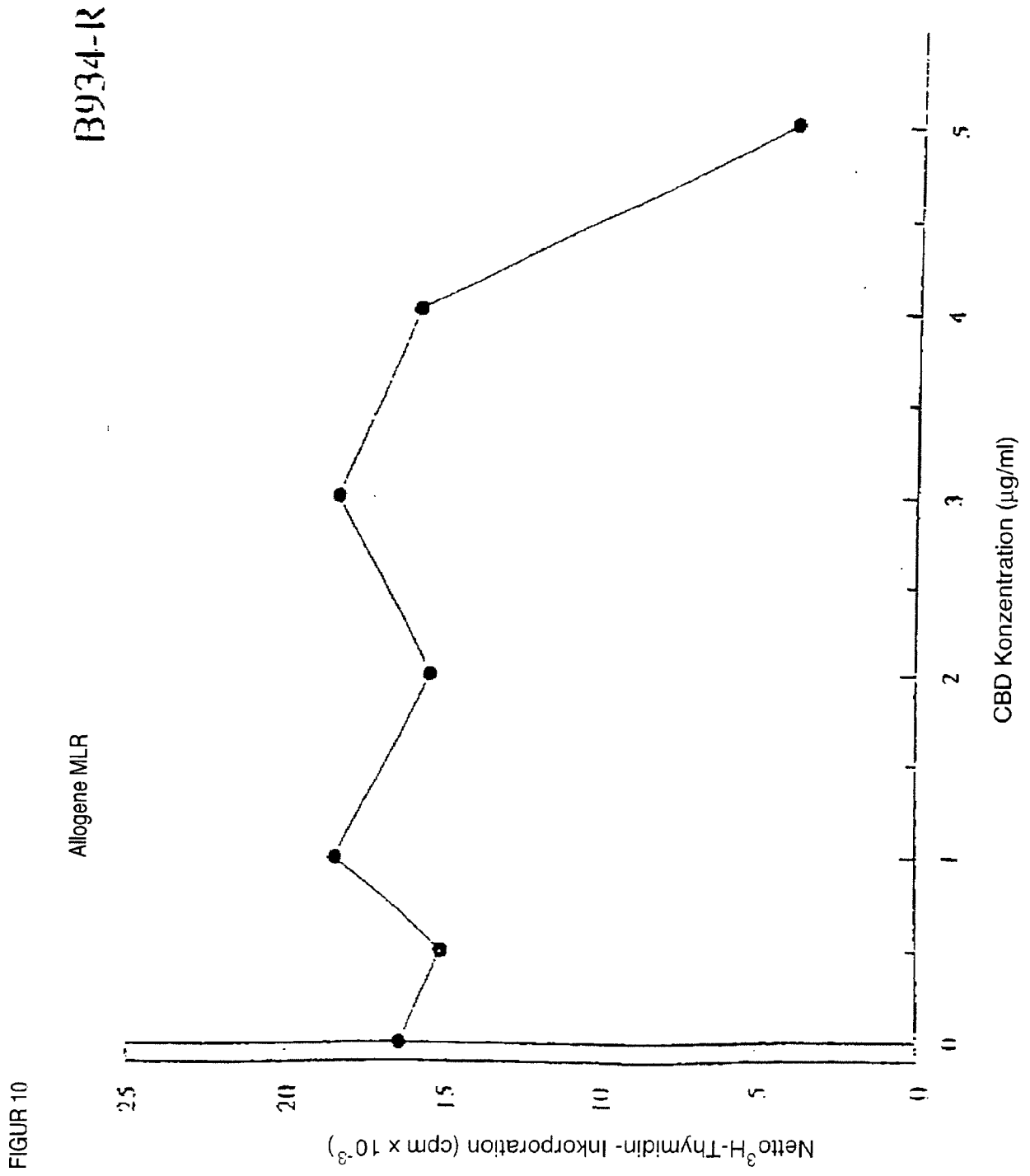
FIGUR 8



FIGUR 9a







# B934-R

FIGUR 11

