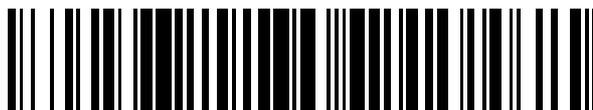


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 460 623**

51 Int. Cl.:

A61P 25/08 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.06.2010 E 10734541 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.03.2014 EP 2448637**

54 Título: **Uso de uno o una combinación de fito-cannabinoides en el tratamiento de epilepsia**

30 Prioridad:

03.07.2009 GB 0911580

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

14.05.2014

73 Titular/es:

**GW PHARMA LIMITED (50.0%)
Porton Down Science Park
Salisbury Wiltshire SP4 0JQ, GB y
OTSUKA PHARMACEUTICAL CO. LIMITED
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**WHALLEY, BEN;
STEPHENS, GARY;
WILLIAMS, CLAIRE;
GUY, GEOFFREY;
WRIGHT, STEPHEN y
KIKUCHI, TETSURO**

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 460 623 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

Uso de uno o una combinación de fito-cannabinoides en el tratamiento de epilepsia

5 Esta invención se relaciona con el uso de cannabidiol en el tratamiento de epilepsia y más particularmente con el uso de este cannabinoide en el tratamiento de crisis parcial.

ANTECEDENTES

10 La epilepsia es un trastorno neurológico crónico que presenta un amplio espectro de enfermedades que afecta a aproximadamente 50 millones de personas en todo el mundo (Sander, 2003). Los avances en la comprensión del sistema 'endocanabinoide' interno del cuerpo han llevado a la sugerencia de que algunos medicamentos basados en el cannabis pueden tener el potencial para el tratamiento de este trastorno de la hiperexcitabilidad del sistema nervioso central (Mackie, 2006, Wingerchuk, 2004, Alger, 2006).

15 Al cannabis se han atribuido efectos proconvulsivos (Brust y otros., 1992) y anticonvulsivos. Por lo tanto, queda por determinar si los cannabinoides representan una terapia anticonvulsiva aún sin desenmascarar o, por el contrario, un factor de riesgo potencial para los usuarios que usan el cannabis de forma recreativa y medicinal (Ferdinand y otros, 2005).

20 En 1975 Consroe y otros., describieron el caso de un hombre joven cuyo tratamiento estándar (fenobarbital, y fenitoína), no controlaba sus crisis. Cuando comenzó a fumar cannabis socialmente no tuvo convulsiones. Sin embargo cuando usó solamente cannabis las crisis regresaron. Ellos concluyeron que la 'marihuana puede poseer un efecto anticonvulsivo en la epilepsia humana'.

25 Un estudio de Ng (1990) involucró una gran población de 308 pacientes epilépticos que habían sido ingresados en el hospital después de su primera crisis. Se compararon con una población control de 294 pacientes que no habían tenido crisis, y se constató que el uso del cannabis parece reducir la probabilidad de tener una crisis. Sin embargo, este estudio fue criticado en un reporte del Instituto de Medicina (1999) el cual reivindicó que era 'débil', ya que el estudio no incluyó medidas del estado de salud antes de los ingresos hospitalarios y las diferencias en su estado de salud podría haber influido en su consumo de fármacos" en lugar de al revés.

En WO02/064109 se hace referencia a los efectos antiepilépticos del cannabinoide cannabidiol (CBD).

35 WO 2006/054057 hace referencia al uso potencial de THCV para tratar epilepsia entre una variedad de enfermedades.

WO2009/007697 describe formulaciones que contienen THCV y CBD.

40 Tres ensayos controlados han investigado el potencial antiepilepsia del cannabidiol. En cada uno, el cannabidiol se administró en forma oral a las víctimas de ataque de epilepsia y crisis focales generalizadas.

45 Cunha y otros (1980) reportaron un estudio en 16 pacientes con ataques de epilepsia a quienes no les iba bien con la medicación convencional. Ellos recibieron su medicación habitual y, o bien 200-300mg de cannabidiol o un placebo. De los pacientes que recibieron CBD, 3 mostraron una mejoría completa, 2 parcial, 2 menor, mientras que 1 se mantuvo sin cambios. El único efecto no deseado fue sedación leve. De los pacientes que recibieron el placebo, 1 mejoró y 7 se mantuvieron sin cambios.

50 Ames (1986) reportó un estudio menos exitoso en el que 12 pacientes epilépticos se les administraron 200-300mg de cannabidiol al día, además de fármacos antiepilépticos estándar. Parecía que había una mejora significativa en la frecuencia de las crisis.

Tremblay y otros (1990) reportan un ensayo abierto con un solo paciente que se le administró 900-1200mg de cannabidiol al día por 10 meses. Este ensayo mostró que la frecuencia de crisis se redujo notablemente en el paciente.

55 Es tal vez significativo que unos 20 años desde estos ensayos no ha habido un mayor desarrollo. Esto podría ser debido a un número de factores incluyendo el prejuicio general contra los medicamentos basados en el cannabis. Es posible además que los niveles de dosis usados en los ensayos no fueran óptimos y el solicitante ha determinado que los cannabinoides pueden producir curva dosis respuesta en forma de campana.

60 Adicionalmente a las descripciones que sugieren que CBD puede ser beneficioso existe un reporte (Davis & Ramsey) de tetrahidrocannabinol (THC) que se administró a 5 niños institucionalizados que no respondían a su tratamiento estándar

(fenobarbital, y fenitoína). Uno se volvió completamente libre de crisis, uno se volvió casi completamente libre de crisis, y los otros tres lo hicieron no peor que antes.

5 Sin embargo, existen más de cuarenta tipos reconocibles de síndrome epiléptico en parte debido a la susceptibilidad de las crisis que varía de paciente a paciente (McCormick y Contreras, 2001, Lutz, 2004) y un reto es encontrar fármacos eficaces contra estos tipos diferentes.

10 La actividad neuronal es un prerrequisito para la función adecuada del cerebro. Sin embargo, alterar el equilibrio excitatorio-inhibitorio de la actividad neuronal puede inducir crisis epilépticas. Estas crisis epilépticas se pueden agrupar en dos categorías básicas: crisis parcial y generalizada. La crisis parcial se origina en regiones específicas del cerebro y permanece localizada - más comúnmente los lóbulos temporales (que contienen al hipocampo), mientras que las crisis generalizadas aparecen en el prosencéfalo completo como una generalización secundaria de una crisis parcial (McCormick y Contreras, 2001, Lutz, 2004). Este concepto de clasificación de crisis parcial y generalizada no se volvió en práctica común hasta que la Liga Internacional contra la Epilepsia publicó un esquema de clasificación de crisis epilépticas en 1969 (Merlis, 1970, Gastaut, 1970, Dreifuss y otros., 1981).

15 La Liga Internacional contra la Epilepsia clasificó además la crisis parcial, separándolas en simple y compleja y, en dependencia de la presencia o el deterioro de un estado de conciencia (Dreifuss y otros, 1981).

20 La liga clasificó además las crisis generalizadas en numerosos tipos de crisis clínicas, algunos ejemplos de los cuales se definen más abajo:

25 La crisis de ausencia se produce con frecuencia, y tienen un inicio repentino con interrupción de las actividades en curso. Además, el discurso se hace más lento o es impedido con crisis que duran sólo unos pocos segundos (Dreifuss y otros, 1981).

30 Las crisis tónico-clónicas, a menudo conocidas como "ataques de epilepsia", son las más frecuentemente encontradas de las crisis generalizadas (Dreifuss y otros, 1981). Este tipo de crisis generalizada tiene dos etapas: contracciones musculares tónicas que dan paso después a la etapa de movimientos convulsivos clónicos. El paciente permanece inconsciente durante toda la crisis y durante un periodo de tiempo variable después.

Las crisis atónicas, conocidas como "ataques de caída", son el resultado de pérdida repentina del tono muscular ya sea para un músculo específico, grupo de músculos o todos los músculos en el cuerpo (Dreifuss y otros, 1981).

35 El inicio de las crisis epilépticas puede ser potencialmente mortal con víctimas que experimentan además las implicaciones de salud a largo plazo (Lutz, 2004). Estas implicaciones pueden tomar muchas formas:

- 40 • problemas de salud mental (por ejemplo la prevención del desarrollo de la sinapsis glutamatérgica normal en la infancia);
- déficit cognitivos (por ejemplo, la disminución de capacidad de los circuitos neuronales en el hipocampo para aprender y almacenar recuerdos);
- 45 • cambios morfológicos (por ejemplo, la pérdida selectiva de neuronas en las regiones CA1 y CA3 del hipocampo en pacientes que presentan epilepsia del lóbulo temporal mesial como resultado de la excitotoxicidad) (Swann, 2004, Avoli y otros, 2005)

50 Es notable que la epilepsia afecta grandemente además el estilo de vida de la víctima que vive potencialmente en temor de lesión resultante (por ejemplo lesión en la cabeza) que resultan de una crisis de *ataque de epilepsia* o la incapacidad para realizar tareas diarias o la incapacidad a conducir un coche a menos de haber tenido un período largo libre de crisis (Fisher y otros, 2000).

Los tres modelos *in vivo* bien establecidos y extensivamente usados de crisis aguda, que mimetizan la actividad neuronal y síntomas físicos resultantes que se manifiesta en una crisis padecida por alguien con epilepsia, son:

- 55 • modelo de crisis generalizadas inducidas por pentilentetrazol (Obay y otros, 2007, Rauca y otros, 2004);
- modelo de crisis lóbulo temporal inducidas por pilocarpina (es decir, hipocampo) (Pereira y otros, 2007); y

- modelo de crisis parciales inducidas por la penicilina (Bostanci y Bagirici, 2006).

Estos proporcionan una variedad de modelos de crisis y epilepsia, esencial para la investigación terapéutica en humanos.

5 Es un objeto de la presente invención identificar fito-cannabinoides o combinaciones de fito-cannabinoides que tienen uso en el tratamiento de formas específicas de crisis asociadas con la epilepsia.

10 Es otro objeto de la presente invención determinar los intervalos de dosis que puedan resultar eficaces e identificar combinaciones de cannabinoides (que podrían presentarse en diferentes variedades o quimotipos de cannabis) que probablemente resulten más beneficiosas debido a las diferencias en sus probables mecanismos de acción.

BREVE RESUMEN DE LA DESCRIPCIÓN

15 De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención se proporciona cannabidiol (CBD) para usar en el tratamiento de crisis parciales en donde el CBD está presente en una cantidad que proporciona una dosis diaria de al menos 400mg.

Preferentemente el CBD está presente en una cantidad que proporciona una dosis diaria de 400 a 800mg.

20 Preferentemente la crisis parcial se ha convertido en la crisis más grave.

Preferentemente el CBD se usa en combinación con tetrahidrocanabivarina (THCV), con mayor preferencia la THCV está presente en una cantidad que proporciona una dosis diaria de al menos 1.5 mg, con mayor preferencia aún la THCV está presente en una cantidad que proporciona una dosis diaria de al menos 15 mg.

25 Los cannabinoides pueden estar presentes como cannabinoides puros o aislados o en forma de extractos de planta. Cuando se usa un extracto de la planta es preferible que el contenido de THC sea menos que 5% en peso de los cannabinoides totales, con mayor preferencia menos que 4% a 3%, 2% y 1%. La THC puede eliminarse selectivamente de los extractos usando técnicas tales como la cromatografía.

30 En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición para uso en el tratamiento de la crisis parcial que comprende cannabidiol (CBD).

Breve descripción de las figuras

35 En lo adelante se describen además modalidades de la invención con referencia a las Figuras 1 a 9 y 11 a 13 que se refieren a fitocanabinoide THCV y se incluyen sólo para comparación. Las Figuras 10 y 14 a 20 se refieren a fitocanabinoide CBD.

40 La Figura 1 muestra latencias para gravedades de crisis iniciales y posteriores. Las latencias medias para la primera sacudida mioclónica (FMJ) y las puntuaciones de 3.5 se muestran \pm S.E.M. para vehículo o para dosis baja, media o alta de THCV BDS y 70mg/kg de PTZ. n = 8 - 10;

45 La Figura 2 muestra la duración de la crisis y el tiempo para la muerte. Las duraciones medias de las crisis en los animales que sobrevivieron, y el tiempo a partir del primer signo de crisis hasta la muerte en aquellos que murieron, se muestran en \pm S.E.M. para el vehículo o para dosis baja, media o alta de THCV BDS y 70mg/kg de PTZ. n = 3 - 10 dependiente en proporciones de animales que murieron dentro de los grupos experimentales. El \bar{J} = grupo de vehículo no tuvo muertes y de esta manera se muestra aquí sin valor;

50 La Figura 3 muestra las puntuaciones medias de la gravedad. Las puntuaciones media de la gravedad para los grupos de animales tratados con vehículo o con dosis baja, media o alta de THCV BDS antes de 70mg/kg de PTZ. n = 10 para todos los grupos;

55 La Figura 4 muestra las tasas de mortalidad. Las tasas de mortalidad se expresan como porcentajes para los animales tratados con vehículo o con dosis baja, media o alta de THCV BDS y 70mg/kg de PTZ. n = 10 para todos los grupos. El \bar{J} = grupo de vehículo no tuvo muertes, por lo tanto se muestra sin valor;

60 La Figura 5 muestra latencias para gravedades de crisis iniciales y posteriores. Las latencias medias para la primera sacudida mioclónica (FMJ) y las puntuaciones de 3.5 se muestran \pm S.E.M. para vehículo o para dosis baja, media o alta de THCV BDS y 80mg/kg de PTZ. n = 7 - 10;

La Figura 6 muestra la duración de la crisis y el tiempo para la muerte. Las duraciones medias de las crisis en animales que sobrevivieron, y el tiempo a partir del primer signo de crisis hasta la muerte en aquellos que murieron, se muestran en \pm S.E.M. para el vehículo o para dosis baja, media o alta de THCv BDS y 80mg/kg de PTZ. $n = 3 - 7$ dependiente en proporciones de animales que murieron dentro de los grupos experimentales;

La Figura 7 muestra las puntuaciones medias de la gravedad. Las puntuaciones medias de la gravedad para los grupos de animales tratados con vehículo o con dosis baja, media o alta de THCv BDS antes de 80mg/kg de PTZ. $n = 10$ para todos los grupos;

La Figura 8 muestra las tasas de mortalidad. Las tasas de mortalidad se expresan como porcentajes para los animales tratados con vehículo o con dosis baja, media o alta de THCv BDS y 80mg/kg de PTZ. $n = 10$ para todos los grupos;

Las Figuras 9 A-D muestran el desarrollo de crisis inducida por PTZ y la duración con THCv puro. A, B y C muestran la (s) latencia (s) media (s) a partir de la inyección de 80 mg/kg de PTZ a: primer signo de crisis (A); desarrollo de crisis mioclónicas (B) y crisis tónico-clónicas completas (C) para el vehículo y grupos dosificados con THCv. $n=5-16$ en dependencia de la incidencia de cada marcador dentro de un grupo específico). (D) muestra la duración media de las crisis (s) en animales que sobreviven post-crisis. Todos los valores \pm S.E.M., * indican diferencia significativa a partir del grupo vehículo ($P<0.05$; prueba U Mann-Whitney);

Las Figuras 10 A-B muestran el efecto de CBD en las crisis inducidas por PTZ A: % de mortalidad experimentada como resultado de la inyección IP de 80mg/kg de PTZ en animales ($n=15$ para todos los grupos) dosificados con el vehículo y CBD (1, 10,100mg/kg de CBD). B: % de animales dosificados con el vehículo y CBD (1, 10,100mg/kg de CBD) que experimentaron crisis tónico-clónicas como resultado de la inyección IP de 80mg/kg de PTZ. * indica resultado significativo ($p<0.01$);

La Figura 11 muestra la falta de efecto de THCv en el porcentaje de mortalidad. La significación se evaluó usando una prueba binomial por comparación con el control y la significación se aceptó a $P<0.05$. Diferencia no significativa vs control se encontró en cualquier dosis;

La Figura 12 muestra la falta de efecto de THCv sobre la gravedad media de la crisis máxima. La significación se evaluó por ANOVA unidireccional con prueba post-hoc de Tukey; $P>0.5$ para todas las comparaciones vs control;

La Figura 13 A-D muestra el porcentaje de animales en cada grupo que alcanzaron estados de crisis especificadas cuando se trataron con THCv. Las diferencias significativas vs control se evaluaron usando una prueba binomial. $P \leq 0.05$.

La Figura 14 muestra el efecto de CBD sobre el porcentaje de mortalidad. La significación se evaluó por prueba binomial; * muestra un aumento significativo en la mortalidad ($P<0.05$). Tenga en cuenta que este efecto sólo apareció en 10 mg/kg y se perdió en 100 mg/kg, sugestivo de un efecto bifásico;

La Figura 15 muestra la gravedad media de la crisis máxima. La significación se evaluó por ANOVA unidireccional con prueba post-hoc de Tukey; $P>0.5$ para todas las comparaciones vs control;

La Figura 16 A-D describe el porcentaje de animales en cada grupo que alcanzó estados de crisis espeificados. Las diferencias significativas vs control se evaluaron usando una prueba binomial. $P \leq 0.05$ (*); $P \leq 0.001$ (***);

La Figura 17 muestra los efectos de CBD sobre la frecuencia media tónico-clónica. La significación se evaluó usando un ANOVA unidireccional con prueba post-hoc de Tukey. $P \leq 0.05$ (*); $P \leq 0.01$ (**);

La Figura 18 describe el porcentaje de la duración del tiempo transcurrido en un estado tónico-clónica comparado con la duración total del periodo de crisis. La significación se evaluó usando un ANOVA unidireccional con prueba post-hoc de Tukey. $P \leq 0.05$ (*);

La Figura 19 A-B describe los efectos de CBD sobre las crisis tónico-clónicas sin control de la postura. A: % de animales que experimentaron crisis tónico-clónicas sin control de la postura. B: frecuencia con la cual los animales manifiestan crisis tónico-clónicas sin control de la postura en las dos horas del periodo de grabación (o hasta la muerte). A: prueba estadística binomial; B: ANOVA unidireccional seguido por la prueba de Tukey. **, *** y # indica $p \leq 0.01$, 0.001 y 0.1 respectivamente; y

La Figura 20 A-C describe el efecto de CBD sobre la gravedad y mortalidad inducida por penicilina. A: Gravedad media de la crisis (línea gris), se muestra además los percentiles 25to y 75to (líneas horizontales negras) y los valores máximo y mínimo (barras de error ascendente y descendente respectivamente) B: Porcentaje de animales que permanecieron libres de crisis

en todo momento. C: Porcentaje de mortalidad. A: ANOVA unidireccional seguido por la prueba de Tukey. B&C: prueba estadística binomial; *, *** y # indica $p \leq 0.05$, 0.001 y 0.1.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

5

Modelo PTZ - Ejemplos 1-3

Metodología General para el modelo PTZ

10

Animales

Ratas macho Wistar (P24-29; 75-110g) se usaron para evaluar los efectos de los cannabinoides: THCV (BDS y puro) y CBD sobre el modelo PTZ de crisis generalizadas. Los animales se habituaron al ambiente de la prueba, jaulas, protocolo de inyección y el manejo antes de la experimentación. Animales se alojaron en una habitación a 21°C en un ciclo de 12 horas de luz: oscuridad (luces en 0900) en 50% humedad, con libre acceso a alimento y agua.

15

Condiciones Experimentales

Cinco tanques de acrilato de metilo de 6L (RTM) con tapas se colocaron en un solo banco con divisores entre ellos. Cámaras de circuito cerrado de televisión (CCTV) se montaron sobre los divisores para observar el comportamiento de la rata. Las cámaras Sony CCD Topica (Bluecherry, Estados Unidos) se unieron a través de cables BNC a un PC de bajo ruido a través de tarjetas de captura digital Brooktree (Bluecherry, Estados Unidos). El programa Zoneminder (<http://www.zoneminder.com>) se usó para supervisar las ratas iniciar y terminar las grabaciones, y tener el control de los archivos de vídeo. Programas personalizados Linux de la casa (RTM) se usaron para codificar los archivos de vídeo en un formato adecuado para análisis fuera de línea además usando El Observador (RTM) (Noldus Technologies).

20

25

Dosis

Un intervalo de dosis de PTZ (50-100 mg/kg de peso corporal) se usaron para determinar la mejor dosis para la inducción de crisis (ver más abajo). Como resultado, las dosis de 70 y 80 mg/kg inyectadas intra-intraperitonealmente (IP; solución concentrada de 50 mg/ml en 0.9 % de solución salina) se usaron para tamizar los cannabinoides.

30

Protocolos experimentales

En el día de la prueba, los animales recibieron una inyección IP con cualquiera de los cannabinoides (dosis baja, media o alta) o un volumen igualado del vehículo de cannabinoides (1:1:18 etanol: Cremofor: 0.9 % p/v de solución NaCl), que sirvió como grupo de control negativo. Los animales se observaron luego por 30 minutos, después de lo cual recibieron una inyección IP de 70 o 80mg/kg de PTZ. Los controles negativos de vehículo se realizaron en paralelo con sujetos dosificados con canabinoide. Después de recibir una dosis de PTZ, los animales se observaron y grabaron en vídeo para determinar la gravedad de la crisis y la latencia de varios tipos de comportamiento de las crisis (ver análisis in vivo, más abajo). Los animales se filmaron por media hora después del último signo de crisis, y regresaron después a su jaula.

35

40

Análisis in vivo

Los animales se observaron durante los procedimientos experimentales, pero todo el análisis se realizó fuera de línea en los archivos de vídeo grabados usando el programa de análisis de comportamiento El Observador (Noldus, Países Bajos). Se usó un sistema de puntuación de la gravedad de las crisis para determinar los niveles de crisis experimentadas por los sujetos (Pohl & Mares, 1987). Todos los signos de crisis se detallaron para todos los animales.

45

50

Tabla 1 Escala de puntuación gravedad de las crisis, adaptado de Pohl& Mares, 1987.

Puntuación de las crisis	Expresión conductual	Reflejo de enderezamiento
0	Sin cambios en la conducta	Preservado
0.5	Conducta anormal (inhalaciones, lavados excesivos, orientación)	Preservado
1	Mioclonías aisladas	Preservado
2	Crisis clónica atípica	Preservado

Puntuación de las crisis	Expresión conductual	Reflejo de enderezamiento
3	Clonus de la extremidad anterior bilateral totalmente desarrollado	Preservado
3.5	Clonus de la extremidad anterior con componente tónico y torsión del cuerpo	Preservado
4	Crisis tónico-clónicas con fase tónica suprimida	Perdido
5	Crisis tónico-clónicas totalmente desarrolladas	Perdido
6	MUERTE	

Latencia a partir de la inyección de PTZ a los indicadores específicos del desarrollo de crisis:

5 Las latencias (en s) se grabaron a partir de la inyección de PTZ a la primera sacudida mioclónica (FMJ; puntuación de 1), y para el animal que alcanza "clonus de extremidad anterior con componente tónico y torsión del cuerpo" (puntuación de 3.5). FMJ es un indicador del inicio de la actividad de crisis, mientras que >90 % de los animales desarrollaron puntuaciones de 3.5, y de esta manera es un buen marcador del desarrollo de las crisis más severas. Los datos se presentan como la media \pm S.E.M. dentro de un grupo experimental.

10 **Máxima gravedad de la crisis:**

Este se da como el valor medio para cada grupo experimental basado en la escala de puntuación más abajo

15 **% mortalidad:**

El porcentaje de animales dentro de un grupo experimental que murió como resultado de las crisis inducidas por PTZ. Tenga en cuenta que la mayoría de los animales que desarrollaron crisis tónico-clónicas (puntuaciones de 4 y 5) en el estudio THCV (BDS) murió como resultado, y que una puntuación de 6 (muerte) indica automáticamente que el animal experimentó además crisis tónico-clónicas.

20 **Duración de la crisis:**

25 El tiempo (en segundos) a partir del primer signo de crisis (típicamente FMJ) a cualquier último signo de crisis o, en el caso de los sujetos que murieron, el momento de la muerte - separado en animales que sobrevivieron y aquellos que no lo hicieron. Esto se da como la media \pm S.E.M. para cada grupo experimental.

Estadísticas:

30 Las diferencias en las latencias y duraciones se evaluaron por análisis unidireccional de la varianza (ANOVA) con la prueba post-hoc de Tukey. $P \leq 0.05$ se consideró significativo.

Ejemplo 1- THCV (BDS) Incluido sólo para comparación

35 El THCV BDS comprende un extracto completo de una variedad estable en el que THCV fue el canabinoide predominante. (es decir fue el principal canabinoide presente en el extracto, 80 % en peso del contenido total de canabinoide). THC fue el segundo canabinoide más prevalente, y estaba presente en cantidades significativas. (es decir, comprendieron más del 10% en peso del contenido total de canabinoide, estando presente en aproximadamente 16 %), y hubo un número de canabinoides menores identificados, cada uno que comprende menos de 2 % en peso del contenido total de canabinoide como se midió por análisis de HPLC. La relación de

40 THCV a THC en este extracto es aproximadamente 5:1.

45 De hecho, el contenido de THCV fue 67.5 % en peso del extracto y el contenido de THC fue 13.6 % en peso del extracto, con otros canabinoides identificados en total que comprenden aproximadamente 3 % en peso del extracto, el 16 % restante que comprende sin canabinoides.

Estudio piloto PTZ

Las crisis inducidas por un intervalo de concentraciones de PTZ (50-100mg/kg; el intervalo presente en la literatura) en ratas se investigaron para determinar una dosis óptima antes de la investigación del efecto de canabinoide. Dosis PTZ de:

- 50mg/kg y 60mg/kg indujeron muy poca actividad similar a la crisis (n=4);
- 70mg/kg típicamente indujo crisis clónicas (puntuación de 3.5; 8 de 13 sujetos);
- 80mg/kg regularmente indujeron crisis tónico-clónicas (puntuaciones de 4 y 5; 6 de 10 sujetos).

Además, se encontró que la dosificación repetida con PTZ resultó en aumento de la sensibilidad en el tiempo; por lo tanto, no se realizaron experimentos en animales que ya habían recibido una dosis de PTZ.

El efecto de THCv BDS sobre las crisis inducidas por PTZ se evaluó por primera vez contra una dosis de PTZ de 70 mg/kg. Como se describe más abajo, esto produjo un grupo control de vehículo que típicamente no experimenta puntuaciones de crisis severas. Por lo tanto THCv BDS se tamizó además contra una dosis de 80mg/kg de PTZ. Se consideró que el aumento de la gravedad de la crisis experimentada por los animales de control de vehículos expuestos a 80mg/kg de PTZ fue una prueba más adecuada de actividad potencial anticonvulsiva.

Efecto de THCv BDS sobre crisis inducidas por PTZ (70mg/kg) moderadamente severas

Tres dosis de THCv BDS se evaluaron contra una concentración de PTZ conocida para inducir crisis moderadas en ratas (70mg/kg; ver piloto, anteriormente). Las dosis baja, media y alta de THCv BDS usadas fueron 0.37, 3.70 y 37.04 mg/kg, y produjeron dosis THCv reales de 0.25, 2.5 y 25mg/kg, respectivamente. Estas dosis se igualaron por el contenido THCv a aquellas que se usan para tamizar THCv puro contra crisis inducidas por PTZ.

THCv BDS no tuvo ningún efecto significativo sobre la latencia a la primera sacudida mioclónica o sobre la latencia para alcanzar una puntuación de gravedad de 3.5 en la escala de gravedad de la crisis (Fig. 1). Se debería señalar que, aunque los valores de estas dos variables fueron superiores para los animales tratados con dosis media y alta de THCv BDS comparados con el control, esto falló para alcanzar significación ($P > 0.05$). Del mismo modo, ningún impacto significativo se observó sobre la duración de las crisis (Fig 2).

Los efectos de THCv BDS sobre la gravedad de la crisis (Fig 3) y mortalidad (Fig 4) en los animales que recibieron la dosis de 70mg/kg de PTZ no se conformaron en un patrón simple. Ningún animal inyectado con vehículo solo excedió la puntuación de gravedad media de 3.5 para cada grupo, y ninguno de los animales murió ($n = 10$).

A diferencia, 70mg/kg de PTZ indujeron crisis severas tónico-clónicas y muerte en 50% de los animales inyectados con una dosis baja de THCv BDS, demostrando una puntuación de gravedad media de 4.75. Este aumento en la gravedad no fue significativo. Sin embargo, los animales inyectados con dosis altas y medias de THCv BDS exhibieron una puntuación de gravedad media inferior y tasas de mortalidad inferiores que aquellos expuestos a dosis bajas (Figs 3 & 4). Las tasas de mortalidad de dosis medias y altas fueron superiores que la del grupo de vehículo, pero sin significación estadística ($P > 0.05$; Fig 4). Sin embargo, las puntuaciones de la gravedad media fueron iguales entre las dosis medias & altas (Fig 3). Este patrón de resultados sugiere que se requirió un conjunto de experimentos adicionales, en los que se evaluó THCv BDS contra una dosis de PTZ que puede inducir crisis severa en los animales control (tratados con vehículo).

Efecto de THCv BDS en las crisis severas inducidas por PTZ (80mg/kg)

Los efectos de las tres dosis iguales de THCv BDS en las crisis inducidas por PTZ 80mg/kg se evaluaron. Es notable que 80mg/kg indujeron significativamente más crisis severas que 70 mg/kg en los grupos control de vehículo ($P = 0.009$), con puntuaciones de gravedad media de la crisis de 6 y 3.5 respectivamente. THCv BDS no tuvo un efecto significativo en las latencias de FMJ o una puntuación de gravedad de 3.5 (Fig 5). Del mismo modo, ningún efecto se observó en las duraciones de las crisis (Fig 6).

La dosis baja de THCv BDS disminuyó tanto la gravedad de la crisis (Fig 7) como la mortalidad (Fig 8) en los animales que recibieron dosis de 80mg/kg de PTZ. Los animales que recibieron menos THCv BDS tuvieron una puntuación de la gravedad media inferior (3.5 comparada con 6) que los controles de vehículo. Sin embargo, esta diferencia no fue significativa ($P > 0.5$). El grupo de dosis baja de THCv BDS tuvo además la mitad de la tasa de mortalidad que el grupo control de vehículo (30% vs 60%).

Los grupos tratados con dosis medias y altas de THCv BDS tuvieron una puntuación de gravedad de la crisis inferior de 4.75 ($P > 0.5$ vs control), y una tasa de mortalidad inferior de 50%, comparada con 6 y 60% respectivamente.

Resumen y conclusión in vivo

El tamizaje de THCv BDS en el modelo de PTZ no pareció tener ninguno de los efectos anti- o pro-convulsivos ya sea en las crisis inducidas por PTZ moderadas o severas. Sin embargo, se observó una tendencia inferior hacia la gravedad y mortalidad en los animales que recibieron una dosis baja de THCv BDS antes de la inducción de las crisis severas (80mg/kg de PTZ), en comparación con los controles de vehículo.

Es posible que este efecto se enmascare en las dosis altas de THCv BDS por los niveles superiores de constituyentes de cannabinoides (tal como THC) presente en el contenido no-THCV de los THCv BDS. Dosis superiores de THCv BDS contendrán dosis aumentadas del contenido no-THCV, tal como THC, que pueden oponerse a cualquiera de los efectos positivos potenciales de THCv.

Ejemplo 2 - THCv (puro) incluido solo para la comparación

Efecto de THCv puro contra las crisis inducidas por PTZ

Dosis bajas (0.025 mg/kg), medias (0.25 mg/kg) y altas (2.5 mg/kg) de THCv puro se evaluaron para sus efectos en las crisis inducidas por PTZ. En este punto es notorio señalar, para comparaciones con el Ejemplo 1 (THCV BDS), que se usaron diferentes dosis de THCv puro en comparación con THCv BDS. Ver la Tabla 2 más abajo.

Tabla 2. Comparación de dosis de THCv BDS y THCv puro usados en el modelo de PTZ

Prueba CB	dosis "baja" (mg/kg)	dosis "media" (mg/kg)	dosis "alta" (mg/kg)
THCV BDS	0.25	2.5	25
THCV Puro	0.025	0.25	2.5

Los valores dados se refieren al contenido de dosis eficaz de THCv (por lo tanto las dosis reales de THCv BDS son aproximadamente 1.5 veces mayores).

80 mg/kg de PTZ indujeron con éxito crisis de diversas gravedades en los animales de los 4 grupos experimentales (n=16 por grupo). Las crisis inducidas por PTZ condujeron a la muerte del 44% de los animales que recibieron vehículo solo . Los grupos que recibieron dosis baja, media y alta de THCv exhibieron todas tasas de mortalidad inferiores a 41%, 33% y 38%, respectivamente; sin embargo, estos valores no fueron significativamente diferentes de aquellos del grupo de vehículo (p>0.05, prueba binomial).

Los valores medios de la latencia en el primer signo de crisis, y en puntuaciones de [3] y [5] en la escala de puntuación de crisis usada, así como la duración de la crisis en los animales sobrevivientes, se describen en las Figs 9A-D.

Se puede observar que las crisis empezaron después, como se muestra con la latencia aumentada en la primera manifestación de comportamiento tipo crisis (Fig. 9A) en animales que recibieron THCv en comparación con los controles de vehículo.

El retraso de la aparición fue significativo a la dosis más alta de THCv (p=0.02). Un patrón similar se observó para latencias con puntuaciones de [3] y [5] (Figs. 9B y 9C) con todas las dosis de THCv que exhiben latencias aumentadas, que alcanzan un nivel significativo en la dosis más alta de THCv (p=0.017 y 0.013 en [3] y [5] respectivamente).

Se observó también que la duración de las crisis inducidas por PTZ en animales que sobrevivieron al período experimental fueron significativamente más cortas después de la administración de la dosis media de THCv en comparación con los controles de vehículo (Figura 9D; p=0.03).

La Tabla 3 muestra más abajo los valores de gravedad media de la crisis en cada grupo experimental.

Tabla 3.Gravedad e incidencia de las crisis

	Vehículo	0.025 mg/kg THCv	0.25 mg/kg THCv	2.5 mg/kg THCv
Gravedad media	4.25	3.5	3.5	3.5
% sin crisis	12.5	5.9	33.3*	18.8

Se dan las gravedades máximas medianas y % de animales que no experimentaron ningún signo de crisis para cada grupo experimental (n=16 para cada valor). * indica diferencia significativa con el grupo de vehículo (prueba de significación binomial, P<0.05).

5 Los animales control de vehículo mostraron una gravedad mediana de la crisis de 4.25, mientras que todos los grupos que recibieron THCv tuvieron una puntuación de gravedad mediana de 3.5. Esta disminución no fue significativamente diferente.

10 El 12.5 % de los animales control de vehículo no mostraron indicadores de crisis, lo que sugiere que estos animales no desarrollaron crisis después de la administración de PTZ. Un número significativamente mayor de animales (33.3 %) no mostraron signos de crisis en el grupo que recibió 0.25 mg/kg (Tabla 3; p = 0.031). Estos datos sugieren que la dosis media de 0.25 mg/kg de THCv protegió contra el desarrollo de las crisis.

Resumen y conclusión in vivo

15 Los efectos de la alta dosis de THCv en los valores de latencia sugieren que THCv puede retrasar tanto la aparición como el desarrollo de la crisis, mientras que los efectos significativos de la dosis media en la incidencia de crisis a dosis media de THCv (0.25 mg/kg) sugieren una acción anticonvulsiva significativa en las crisis inducidas por PTZ.

Ejemplo 3 - CBD (puro)

20 Además de THCv, CBD se evaluó además en el modelo PTZ. Los resultados indican claramente que CBD (a niveles de 100mg/kg) en este modelo es anticonvulsivo, ya que disminuyó significativamente la tasa de mortalidad y la incidencia de las crisis más severas en comparación con los animales control de vehículo.

25 Efecto de CBD puro contra las crisis inducidas por PTZ

CBD puro se inyectó por vía intraperitoneal (IP) en el vehículo estándar (1:1:18 etanol: Cremofor: 0.9 % p/v de NaCl) a dosis de 1, 10 y 100mg/kg junto a los animales que recibieron el vehículo solo en un volumen coincidente (n=15 para cada grupo). 60 minutos después se administró el PTZ (80mg/kg, ip).

30 46.7% de los animales control que recibieron el vehículo solo murió en los 30 minutos de la administración de PTZ (Fig 10). A diferencia sólo el 6.7 % (sólo 1 de 15) de los animales que recibieron 100 mg/kg de CBD murió, una reducción marcada que demostró ser significativa (p<0.001).

35 Además sólo 6.7 % de los animales que recibieron 100 mg/kg de CBD experimentaron las crisis más severas (puntuación de 5) en comparación con 53.3 % de los animales control de vehículo, una disminución que fue también significativa (p<0.001; Fig 10 in vivo).

40 A diferencia de THCv puro, no se observaron aumentos significativos en la latencia del desarrollo de la crisis. Sin embargo, las reducciones marcadas y significativas indican un efecto anticonvulsivo llamativo en las crisis inducidas por PTZ.

El tamizaje y análisis de CBD puro en el modelo de PTZ a altas dosis (100mg/kg) de CBD sobre los niveles de mortalidad e incidencia de las crisis más severas sugiere que el CBD se puede atenuar la gravedad de las crisis inducidas por PTZ

45 Modelo de pilocarpina - Ejemplos 4 y 5

Ejemplo 4 - THCv puro incluido sólo para comparación

Efecto de THCv puro frente a las crisis inducidas por pilocarpina

50 El THCv puro se inyectó por vía intraperitoneal (IP) en el vehículo estándar (1:1:18 etanol:Cremofor:0.9%^{p/v} de NaCl) a dosis de 0.025, 0.25 y 2.5 mg junto a los animales que recibieron el vehículo solo en un volumen coincidente (n≥14 para cada grupo). 15 minutos más tarde se administró la metilescopolamina (1 mg/kg; para reducir los efectos muscarínicos periféricos de la pilocarpina) seguido, 45 minutos más tarde por la administración de pilocarpina (380 mg/kg, IP).

55 Resultados

60 No se observó efecto significativo en ninguna de las dosis de THCv después de la latencia por la aparición de la crisis (P>0.5 para todas las dosis vs control; ANOVA unidireccional con la prueba de post-hoc de Tukey). No se observó ningún cambio significativo en el porcentaje de mortalidad vs control para cualquiera de las dosis de THCv (Figura 11).

Además THCv no tuvo ningún efecto sobre la gravedad media máxima de la crisis alcanzada por el grupo de animales (Figura 12).

5 El porcentaje de animales en cada grupo que alcanza un estado de crisis en particular (clonus unilateral de extremidad anterior, clonus bilateral de extremidad anterior, clonus bilateral de extremidad anterior con la erección y caída y tónico-clónicas) se evaluó además (Figura 13A-D).

10 THCv no causó cambios significativos en el porcentaje de animales que muestran clonus unilateral de extremidad anterior, clonus bilateral de extremidad anterior o crisis tónico-clónicas en ninguna de las dosis. Curiosamente, 0.25 mg/kg de THCv provocó un aumento significativo en el porcentaje de animales que presentan clonus bilateral de extremidad anterior con erección y caída, aunque este efecto no se observó en ninguna otra dosis.

15 **Ejemplo 5 - CBD puro**

Efecto del CBD puro frente a ataques inducidos por pilocarpina

20 CBD puro se inyectó por vía intraperitoneal (IP) en el vehículo estándar (1:1:18 etanol:Cremophor:0.9%^P/_v NaCl) en dosis de 1, 10 y 100mg/kg junto a los animales que recibieron el vehículo solo en un volumen coincidente (n≥14 para cada grupo). 15 minutos más tarde se administró la metilescopolamina (1 mg/kg; para reducir los efectos muscarínicos periféricos de la pilocarpina) seguido, 45 minutos más tarde por la administración de pilocarpina (380 mg/kg, IP).

Resultados

25 No se observó efecto significativo en ninguna de las dosis de CBD después de la latencia por la aparición de la crisis (P>0.5 para todas las dosis vs control; ANOVA 1-direccional con la prueba de post-hoc de Tukey). Un aumento significativo en el porcentaje de mortalidad vs control se observó para la dosis de 10 mg/kg de CBD como se muestra en la Figura 14.

30 La Figura 15 detalla que el CBD no tuvo ningún efecto sobre la gravedad media máxima de la crisis alcanzada por cada grupo de animales.

35 Las Figuras 16 A-D detallan el porcentaje de animales en cada grupo que alcanza un estado de crisis en particular (clonus unilateral de extremidad anterior, clonus bilateral de extremidad anterior, clonus bilateral de extremidad anterior con erección y caída y tónico-clónicas).

40 CBD provocó una disminución significativa en el porcentaje de animales que muestran clonus unilateral de extremidades anteriores en dosis de CBD >1 mg/kg, curiosamente, aunque no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de animales que presentan clonus bilateral de extremidades anteriores, el porcentaje de animales que se manifiesta con clonus bilateral de extremidades anteriores con erección y caída se redujeron significativamente en todas las dosis de CBD >1 mg/kg. El porcentaje de animales que presentan crisis tónico-clónicas se redujo significativamente a dosis de CBD de 1 mg/kg y 100 mg/kg pero no 10 mg/kg (c.f. Figura 14).

45 Los efectos de CBD sobre los eventos de la crisis tónico-clónicas mediante el examen de la frecuencia media de los eventos tónico-clónicas son como se muestra en la Figura 17. CBD provocó una reducción significativa en la frecuencia media tónico-clónicas en todas las dosis probadas. Los efectos de CBD sobre la frecuencia media de todas las puntuaciones de la crisis se evaluaron además de la misma manera, pero no se encontraron diferencias significativas vs control (P>0.5 para todas).

50 La duración del porcentaje de tiempo empleado en un estado tónico-clónica en comparación con la duración total del período de crisis se examinó (Figura 18). CBD redujo significativamente la duración del porcentaje en las dosis de 1 mg/kg y 100 mg/kg pero no de 10 mg/kg.

Ejemplo 6

55 **Modelo de la penicilina - Ejemplo 6 (solamente)**

Ejemplo 6 - CBD puro

Efectos de CBD puro en las crisis inducidas por la penicilina

60

CBD (1, 10 y 100mg/kg) o CBD vehículo (1:1:18 etanol:Creomofor: 0.9%^P/_v, NaCl) se administró intraperitoneal en ratas machos adultas Wistar (>250g). Una semana antes de esto, los animales se implantaron quirúrgicamente con una cánula en el ventrículo lateral derecho, bajo anestesia. Una hora después de la administración de CDB, 150UI de penicilina se infundió en el ventrículo lateral derecho con 1.5µl de solución salina más de un minuto y registró en video el comportamiento de la crisis durante dos horas.

Después de un examen de las respuestas de los animales a la penicilina sola (usando datos obtenidos a partir de los grupos control de vehículo, se derivó una escala de puntuación de la crisis finalizada para las crisis parciales inducidas por penicilina. El siguiente sistema de puntuación que se derivó de varios sistemas de puntuación existentes y publicados para este modelo, se usará por lo tanto, para el análisis de los efectos del fármaco en dichas crisis.

Escala de puntuación de la crisis para las crisis parciales inducidas por penicilina.

0	Periodo Latente
1	corrida/salto silvestre
2	Fase mioclónica
3	Clonus unilateral de extremidades anteriores
4	Clonus bilateral de extremidades anteriores
5	Crisis tónico-clónicas con el control postural retenido
6	Crisis tónico-clónicas sin el control postural

Siete de los doce animales tratados con vehículo desarrollaron las crisis más severas (crisis tónico-clónicas sin control postural; Figura 19 A), mientras que, la administración de 100mg/kg de CDB evitó completamente el desarrollo de estas crisis de forma significativa ($p=0.001$). Disminuciones casi significativas en el desarrollo de estas crisis se observaron en los animales tratados con 1 y 10mg/kg de CBD (Figura 16A, $p=0.076$ para ambos). La frecuencia con la que los animales experimentaron las crisis más severas se afectó significativamente también (ANOVA, $p=0.009$; Figura 19 B), con una disminución significativa en comparación con el grupo vehículo en 100mg/kg de CDB ($p=0.006$) y un efecto casi significativo en 10mg/kg ($p=0.071$).

El efecto del tratamiento de CDB sobre la gravedad de la crisis y la mortalidad de los animales se describe en la Figura 20 A-C. Una dosis de 100 mg/kg de CBD redujo significativamente la gravedad mediana de las crisis inducidas por la penicilina en comparación con los animales tratados con vehículo (ANOVA $p=0.024$, diferencia entre el vehículo y 100mg/kg de CDB $p=0.012$; Figura 20 A). Curiosamente, todas las dosis de CBD (1, 10 y 100mg/kg) aumentaron significativamente la proporción de animales que permanecieron libres de crisis ($p<0.001$ para todas las dosis; Figura 20 B). Por último, 100mg/kg tuvo un efecto casi significativo en la mortalidad en comparación con el vehículo ($p=0.057$).

Conclusión general

De estos estudios se desprende que tanto THCV (puro) como CBD (puro) se muestran prometedores como un antiepiléptico para la crisis generalizada, particularmente la crisis tónico-clónicas. Los datos generados por un extracto rico en THCV, que contiene otros cannabinoides que incluyen cantidades significativas de THC, sugieren que el THC puede contrarrestar el efecto de THCV y que un extracto de cannabinoide que contiene THCV como un cannabinoide principal o predominante, pero que contiene además mínimo, o sustancialmente ningún THC puede ser deseable para el tratamiento de la epilepsia.

Además los resultados con CDB puro sugieren que un extracto que contiene cantidades significativas tanto de THCV como CBD, pero también, mínimo o sustancialmente ningún THC puede proporcionar una combinación óptima. Como consecuencia, puede resultar deseable preparar un extracto predominante de THCV en el que el THC se elimina selectivamente, y sustancialmente (hasta niveles de menos que un por ciento bajo). Esto se puede mezclar con un extracto rico en CDB (que contiene niveles mucho más bajos de THC) en el que CBD es el cannabinoide principal y predominante (además con bajos niveles de THC) para producir un extracto con niveles claramente definidos y significativos tanto de THCV como CBD, pero con niveles insignificantes de THC. Tal extracto puede contener otros componentes cannabinoides y no-cannabinoides que resultan de la extracción, mediante por ejemplo, dióxido de carbono como se describe en WO04/016277, cuyos componentes pueden soportar un efecto de "cortejo" en el sistema endocannabinoide.

En la dosificación, un factor de conversión rata / humano (x6) sugiere una dosis diaria de CBD de al menos 600 mg (y, opcionalmente, entre 400 mg y 800 mg) y para THCv al menos 1.5 mg (medio) hasta preferentemente de al menos 15 mg (alta).

5 Donde un extracto de fitocanabinoide debe usarse, se desea un extracto con niveles bajos o insignificantes de THC y niveles terapéuticamente eficaces de THCv y / o CBD.

10 Los datos descritos en los Ejemplos anteriores muestran claramente que, aunque CBD muestra algunas propiedades anticonvulsivas en todos los tres modelos probados, puede ser mejor en el tratamiento de crisis generalizadas o parciales. A diferencia THCv fue sólo eficaz en el modelo de PTZ. Este hallazgo sugiere que los dos canabinoides pueden tener diferentes mecanismos de acción y que la combinación puede proporcionarse para tratamientos más generales. En este sentido THCv parece selectivo para las crisis generalizadas, más particularmente crisis tónico-clónicas y CBD parece ser más eficaz en las crisis generalizadas y parciales.

15 **Referencias**

ALGER, B. E. (2006) Not too excited? Thank your endocannabinoids. *Neuron*, 51, 393-5.

20 AMES FR. (1986) Anticonvulsant effect of cannabidiol. *South African Medical Journal* 69:14.

AVOLI, M., LOUVEL, J., PUMAIN, R. & KOHLING, R. (2005) Cellular and molecular mechanisms of epilepsy in the human brain. *Prog Neurobiol*.

25 BOSTANCI, M. O. & BAGIRICI, F. (2006) The effects of octanol on penicillin induced epileptiform activity in rats: an in vivo study. *Epilepsy Res*, 71, 188-94.

BRUST, J. C., NG, S. K., HAUSER, A. W. & SUSSER, M. (1992) Marijuana use and the risk of new onset seizures. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 103, 176-81.

30 CONSROE, P.F., WOOD, G.C. & BUCHSBAUM, H. (1975) Anticonvulsant Nature of Marihuana Smoking. *J.American Medical Association* 234 306-307

35 CUNHA, J. M., CARLINI, E. A., PEREIRA, A. E., RAMOS, O. L., PIMENTEL, C., GAGLIARDI, R., SANVITO, W. L., LANDER, N. & MECHOULAM, R. (1980) Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. *Pharmacology*, 21, 175-85.

DAVIS, J P., & RAMSEY, H.H. (1949) Antiepileptic Action of Marijuana-active Substances. *Federation Proceedings* 8 284-285

40 DREIFUSS, F. E., BANCAUD, J., HENRIKSEN, O., RUBIO-DONNADIEU, F.PENRY, J. K. & SEINO, M. (1981) Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*, 22, 489-501.

45 FERDINAND, R. F., VAN DER ENDE, J., BONGERS, I., SELTEN, J. P., HUIZINK, A. & VERHULST, F. C. (2005) Cannabis-psychoosis pathway independent of other types of psychopathology. *Schizophr Res*, 79, 289-95.

FISHER, R. S., VICKREY, B. G., GIBSON, P., HERMANN, B., PENOVICH, P., SCHERER, A. & WALKER, S. (2000) The impact of epilepsy from the patient's perspective I. Descriptions and subjective perceptions. *Epilepsy Res*, 41, 39-51.

50 GASTAUT, H. (1970) Clinical and Electroencephalographical Classification of Epileptic Seizures. *Epilepsia*, 11, 102-112.

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

55 LUTZ, B. (2004) On-demand activation of the endocannabinoid system in the control of neuronal excitability and epileptiform seizures. *Biochem Pharmacol*, 68, 1691-8.

MACKIE, K. (2006) Cannabinoid receptors as therapeutic targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 46, 101-22.

60 MCCORMICK, D. A. & CONTRERAS, D. (2001) On the cellular and network bases of epileptic seizures. *Annu Rev Physiol*, 63, 815-46.

MERLIS, J. K. (1970) Proposal for an International Classification of the Epilepsies. *Epilepsia*, 11, 114-119.

NG y otros (1990) Illicit drug use and the risk of new-onset seizures, *American Journal of Epidemiology* 132: 47-57.

5 OBAY, B. D., TASDEMIR, E., TUMER, C., BILGIN, H. M. & SERMET, A. (2007) Antiepileptic effects of ghrelin on pentylentetrazole-induced seizures in rats. *Peptides*, 28, 1214-9.

10 PEREIRA, M. B., FREITAS, R. L., ASSIS, M. A., SILVA, R. F., FONTELES, M. M., FREITAS, R. M. & TAKAHASHI, R. N. (2007) Study pharmacologic of the GABAergic and glutamatergic drugs on seizures and status epilepticus induced by pilocarpine in adult Wistar rats. *Neurosci Lett*, 419, 253-7.

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

15 RAUCA, C., WISWEDEL, I., ZERBE, R., KEILHOFF, G. & KRUG, M. (2004) The role of superoxide dismutase and alpha-tocopherol in the development of seizures and kindling induced by pentylentetrazol - influence of the radical scavenger alpha-phenyl-N-tert-butyl nitron. *Brain Res*, 1009, 203-12.

SANDER, J. W. (2003) The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol*, 16, 165-70.

20 SWANN, J. W. (2004) The effects of seizures on the connectivity and circuitry of the developing brain. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 10, 96-100.

25 TREMBLY B. SHERMAN M. (1990) Double-blind clinical study of cannabidiol as a secondary anticonvulsant. *Marijuana '90 International Conference on Cannabis and Cannabinoids*. Kolympari, Crete, Julio 8-11, 1990.

WINGERCHUK, D. (2004) Cannabis for medical purposes: cultivating science, weeding out the fiction. *Lancet*, 364, 315-6

REIVINDICACIONES

- 5
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
1. Cannabidiol (CBD) para usar en el tratamiento de crisis parcial en donde el CBD está presente en una cantidad que proporciona una dosis diaria de al menos 400mg.
 2. BD para usar en el tratamiento de crisis parcial como se reivindica en la reivindicación 1 en donde el CBD está presente en una cantidad que proporciona una dosis diaria de 400 a 800mg.
 3. CBD para usar en el tratamiento de crisis parcial como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la crisis parcial se desarrolla en una crisis más grave.
 4. CBD para usar en el tratamiento de crisis parcial como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde el CBD se usa en combinación con THCV.
 5. CBD para usar en el tratamiento de crisis parcial como se reivindica en la reivindicación 4, en donde la THCV está presente en una cantidad que proporciona una dosis diaria de al menos 1.5 mg.
 6. CBD para usar en el tratamiento de crisis parcial como se reivindica en la reivindicación 5, en donde la THCV está presente en una cantidad que proporciona una dosis diaria de al menos 15 mg.
 7. CBD para usar en el tratamiento de crisis parcial como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o en combinación con THCV como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en donde el CBD solo o en combinación con THCV está presente como un extracto de planta.
 8. CBD para usar en el tratamiento de crisis parcial como se reivindica en la reivindicación 7, en donde el extracto de planta comprende menos que 5% en peso de tetrahidrocannabinol (THC) como un porcentaje de cualquier canabinoide presente en el extracto de planta.
 9. CBD para usar en el tratamiento de crisis parcial como se reivindica en la reivindicación 8, en donde el extracto de planta comprende menos que 1 % en peso de tetrahidrocannabinol (THC) como un porcentaje de cualquier canabinoide presente en el extracto de planta.
 10. CBD para usar en el tratamiento de crisis parcial como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, solo o en combinación con THCV como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en donde el CBD solo o en combinación con THCV está presente como un canabinoide puro o aislado.
 11. Una composición para usar en el tratamiento de crisis parcial que comprende cannabidiol (CBD).
 12. El uso de Cannabidiol (CBD) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la crisis parcial.

Figura 1

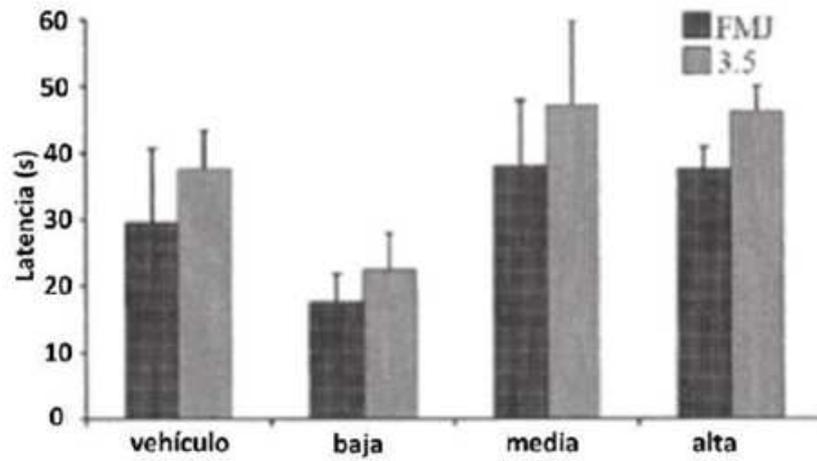


Figura 2

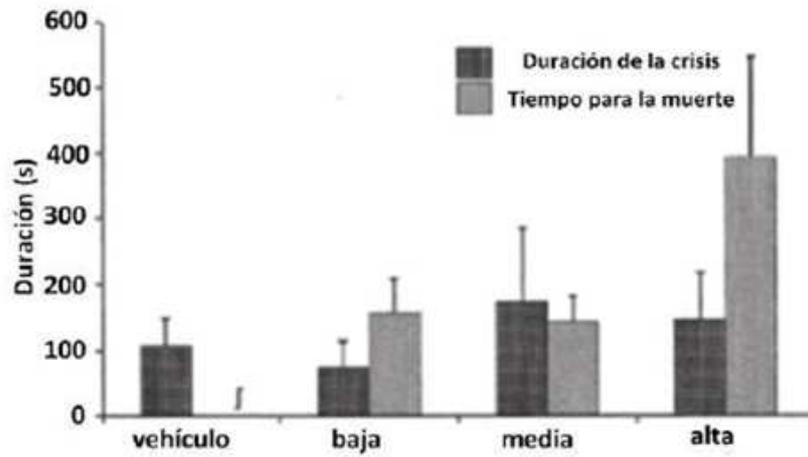


Figura 3

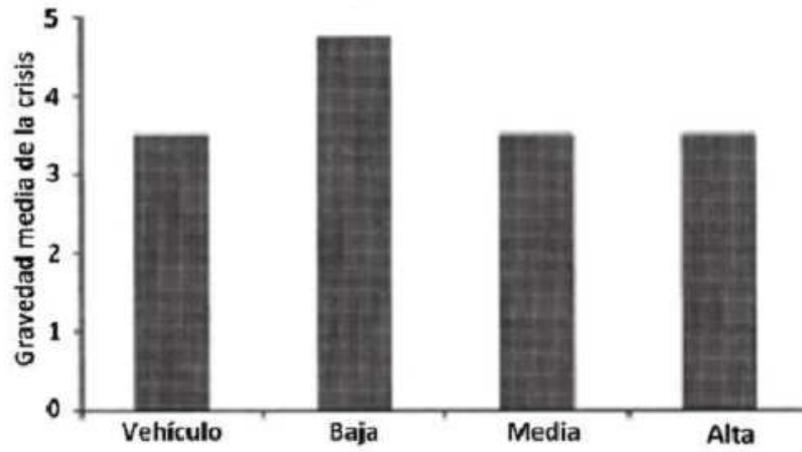


Figura 4

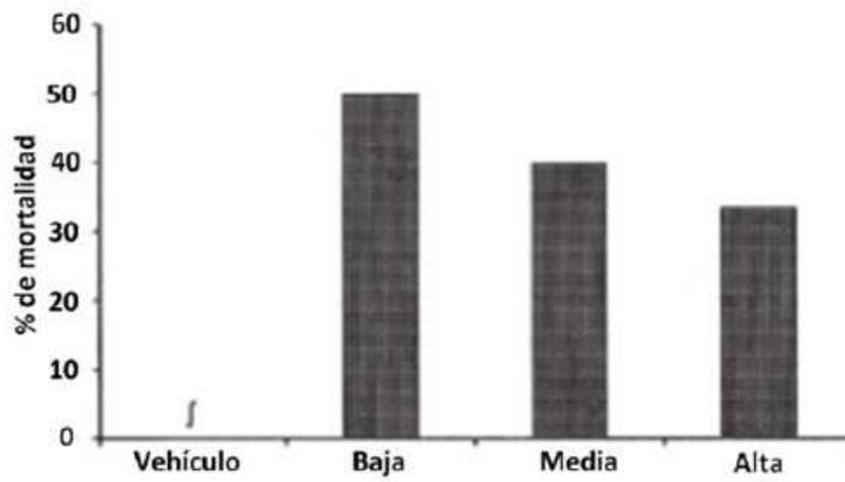


Figura 5

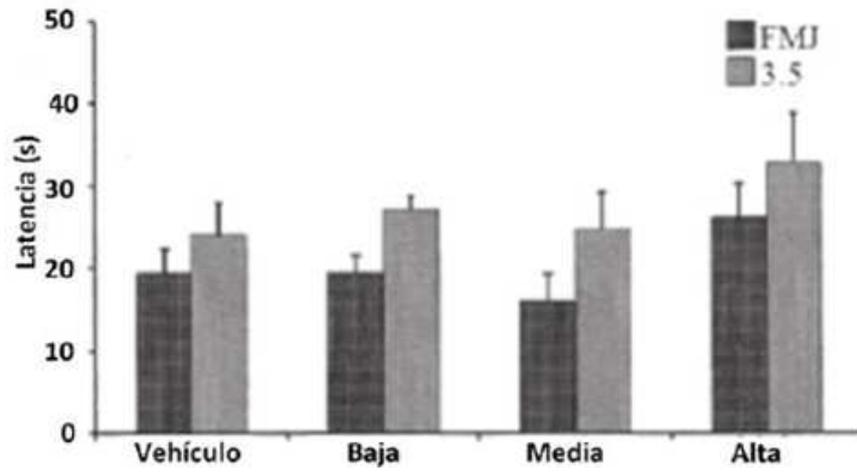


Figura 6

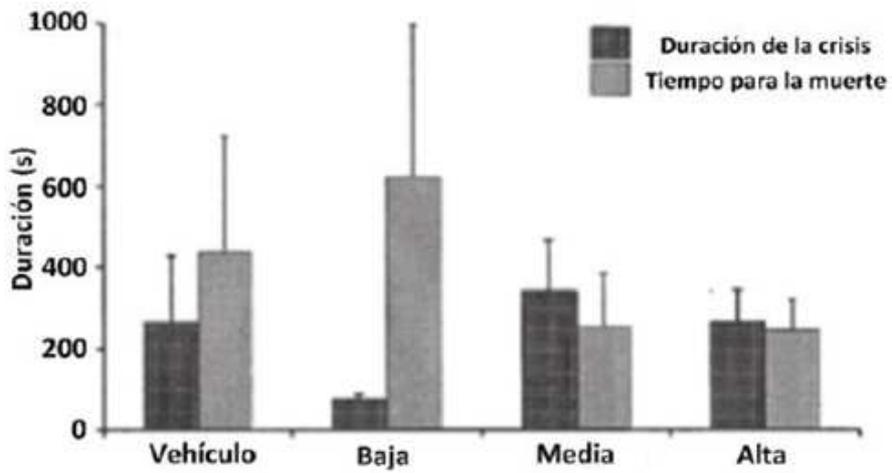


Figura 7

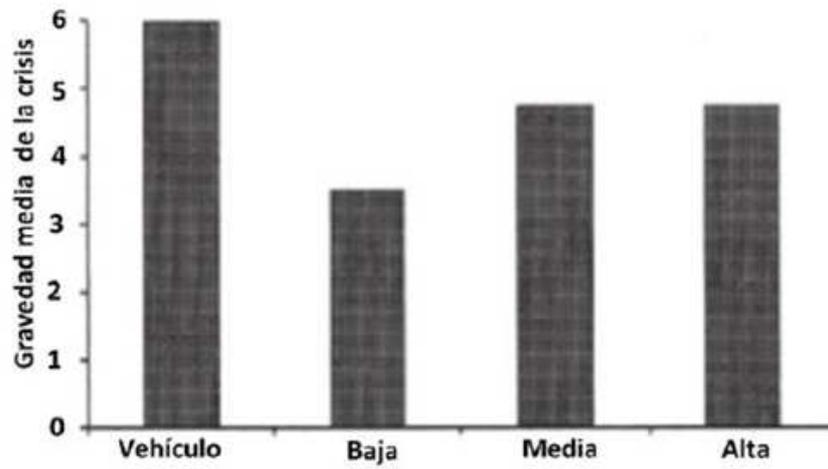


Figura 8

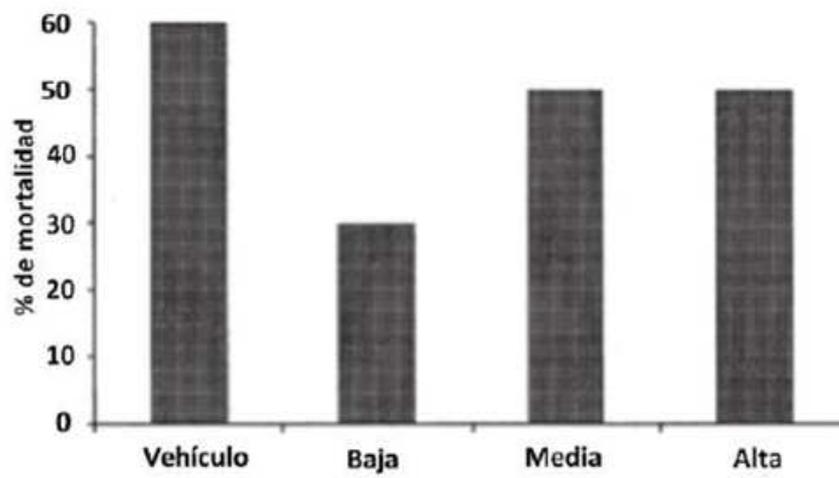


Figura 9 A-D

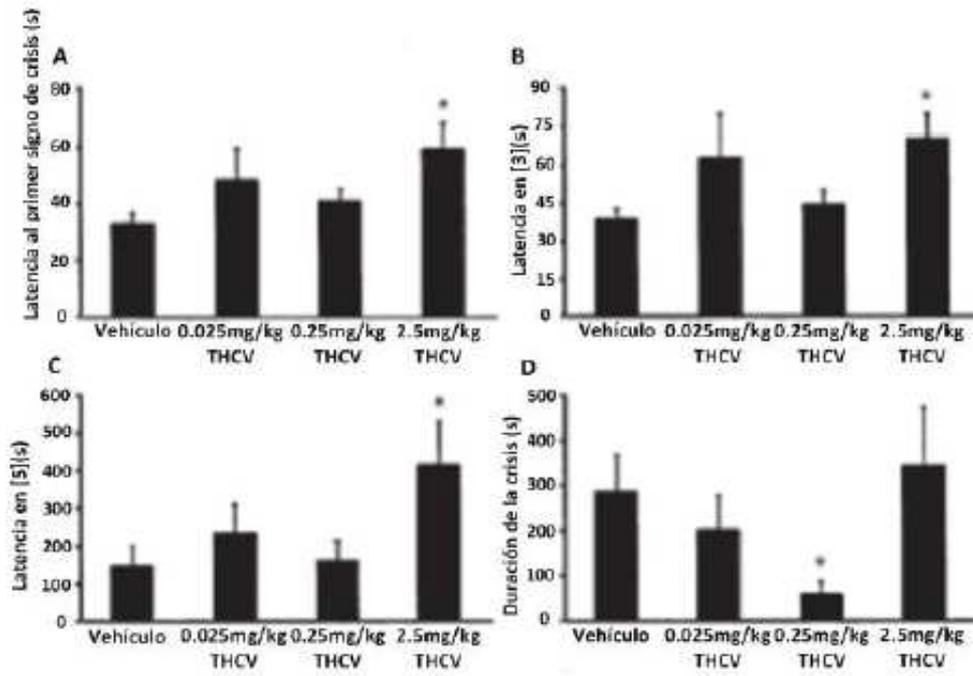


Figura 10 A-B

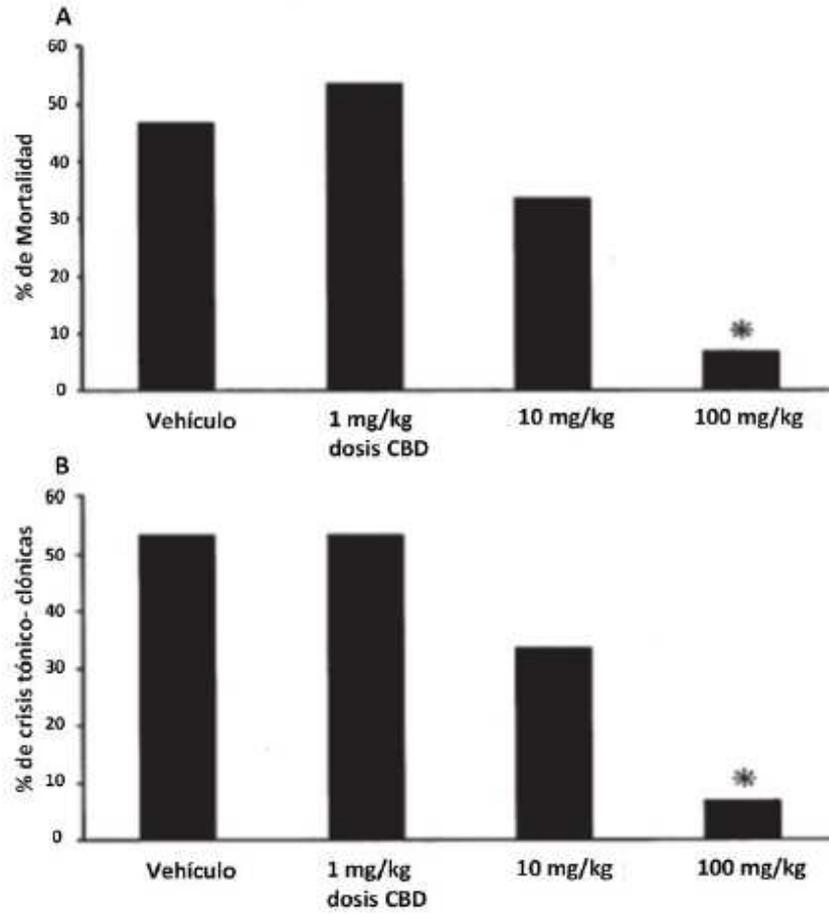


Figura 11

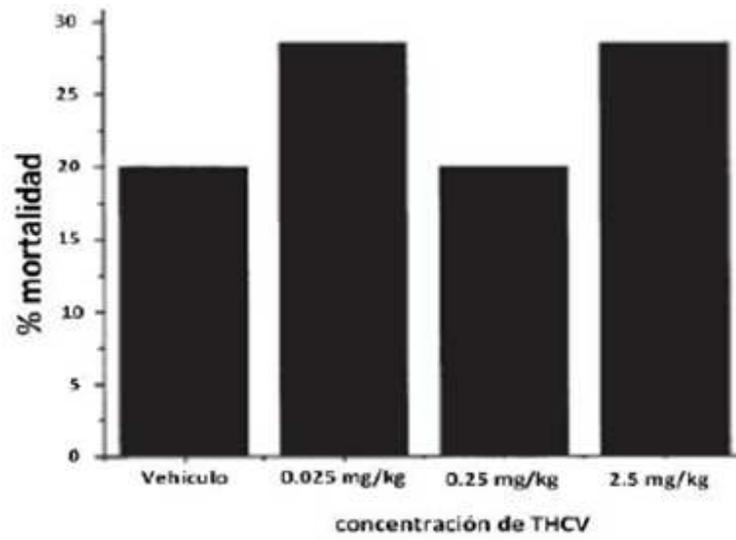


Figura 12

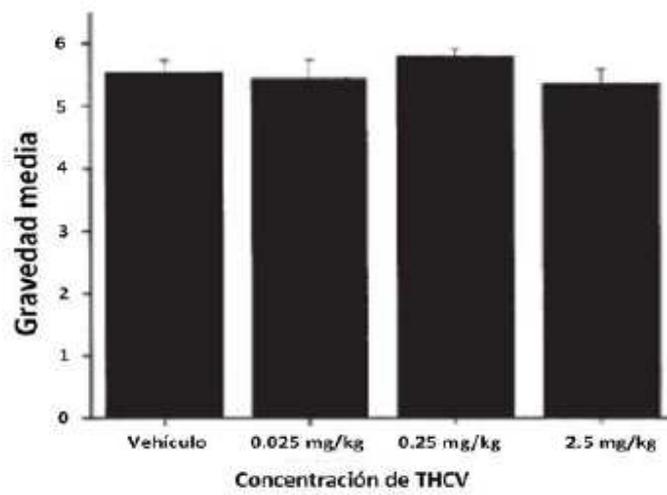


Figura 13 A-D

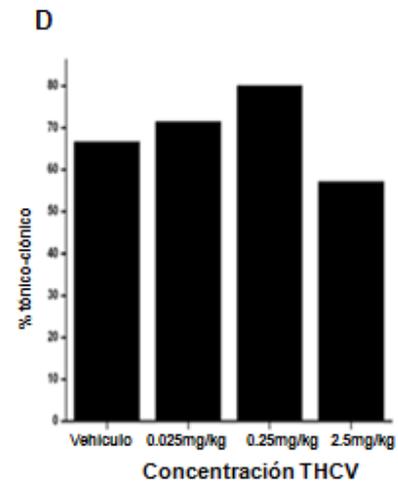
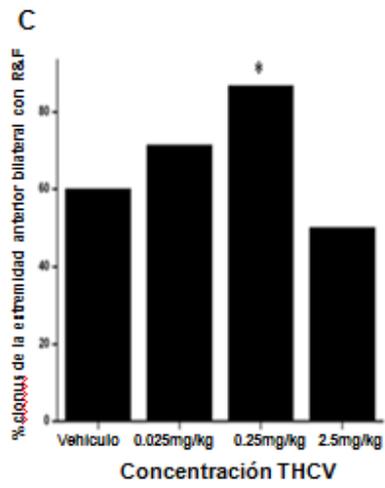
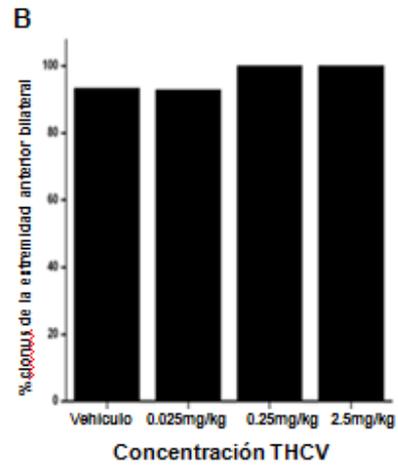
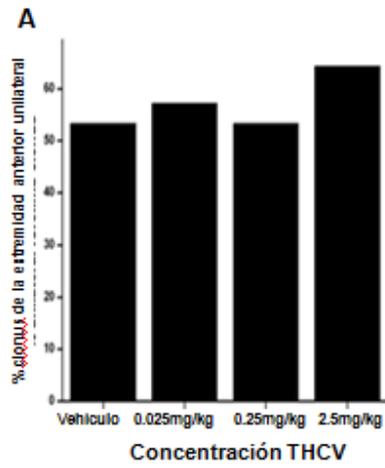


Figura 14

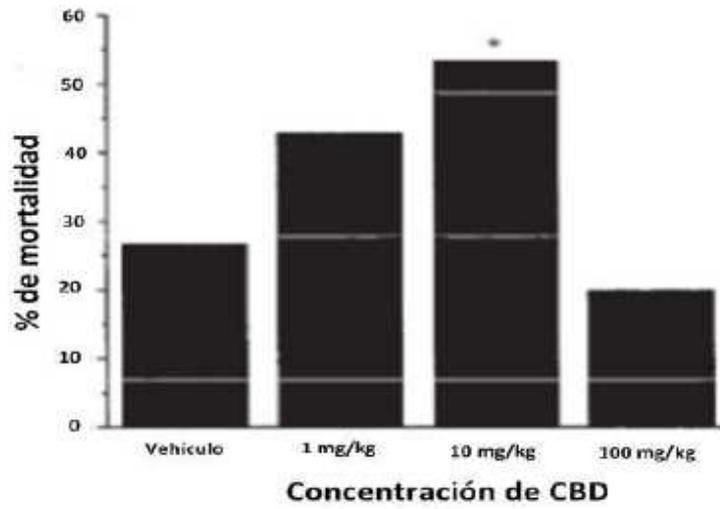


Figura 15

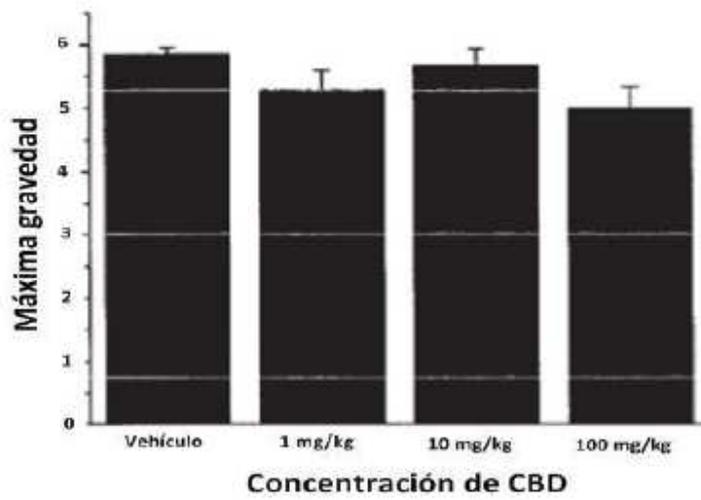
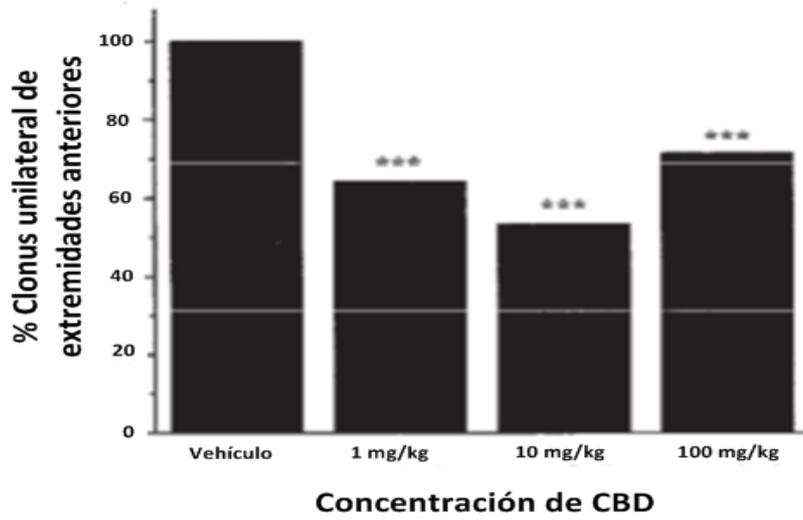
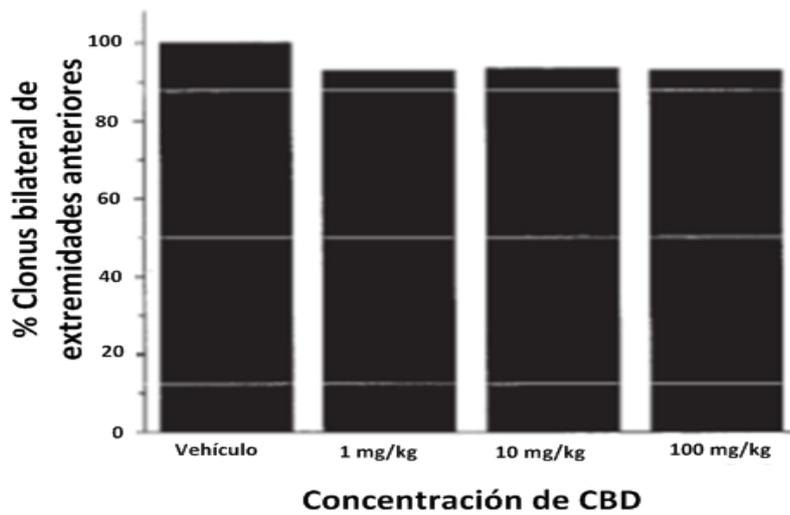


Figura 16 A-D

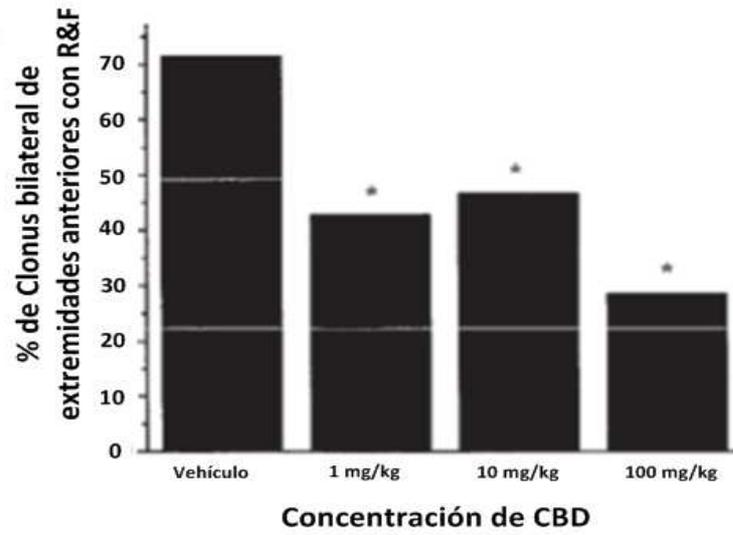
A



B



C



D

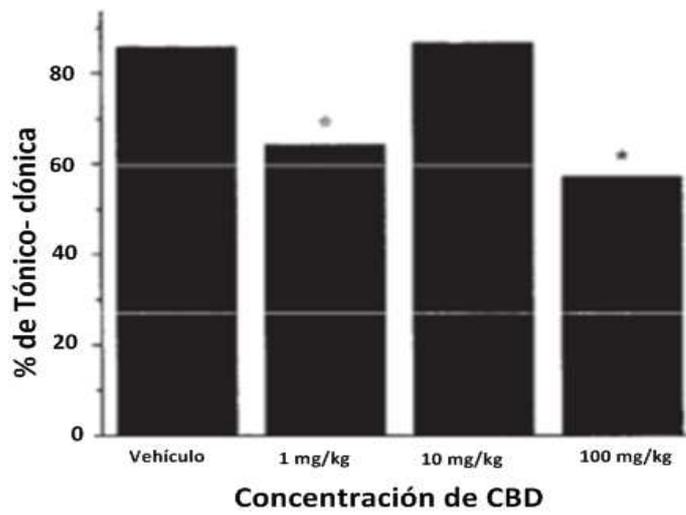


Figura 17

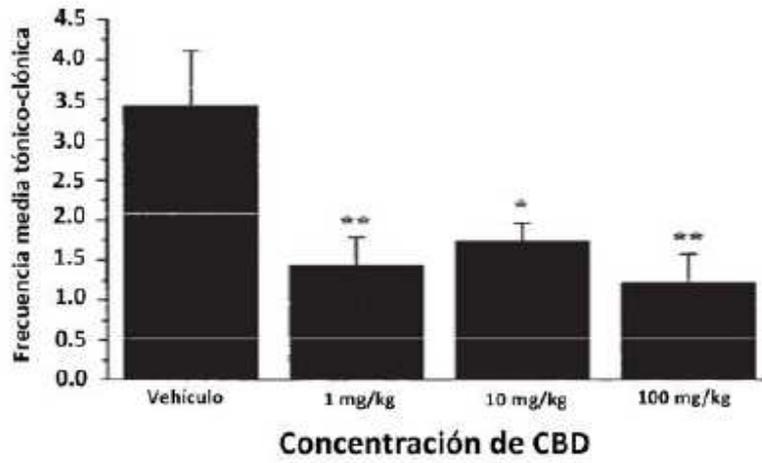


Figura 18

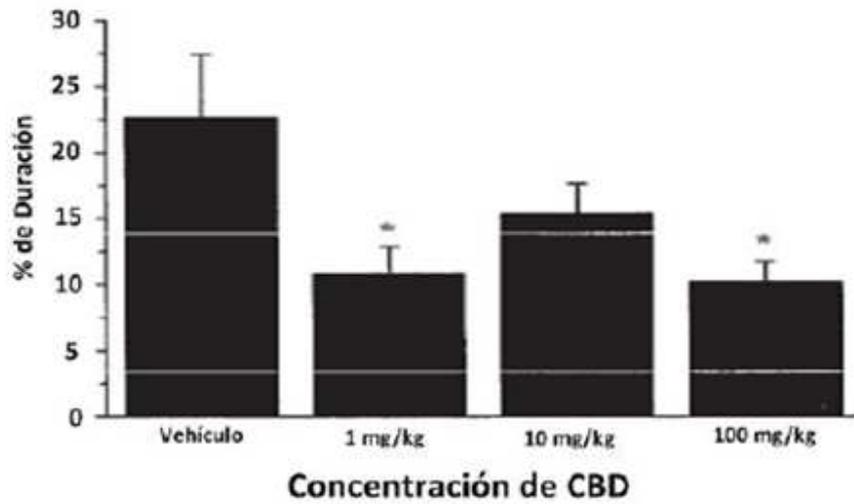


Figura 19 A-B

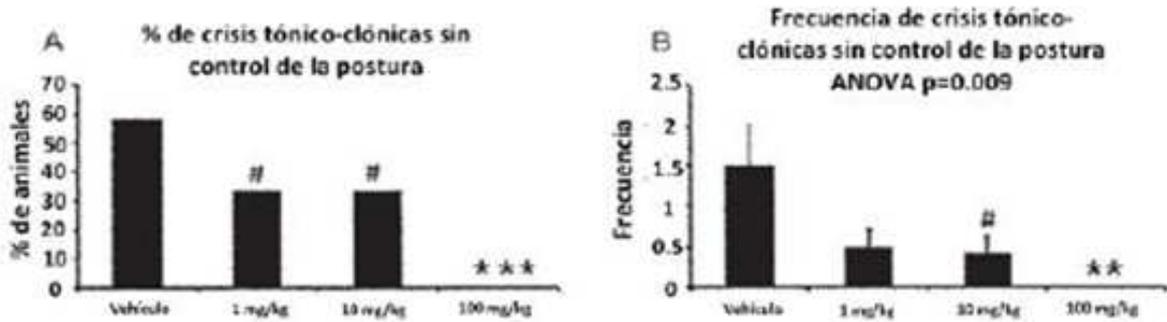


Figura 20 A-C

