

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202490028** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.06.04

(22) Дата подачи заявки
2021.11.26

(51) Int. Cl. *A61K 31/05* (2006.01)
A61K 133/00 (2006.01)
A61K 36/60 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01)
A61K 127/00 (2006.01)

(54) КАННАБИНОИДНАЯ КОМПОЗИЦИЯ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ТАКИХ КАК БОЛЕЗНЬ ПАРКИНСОНА И БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА

(31) **202110916566.9**

(32) **2021.08.11**

(33) **CN**

(86) **PCT/CN2021/133379**

(87) **WO 2023/015772 2023.02.16**

(71) Заявитель:

**ХЕМПАЙР (ШАНХАЙ)
ФАРМАСЬЮТИКАЛ РЭНДД
ЛИМИТЕД (CN)**

(72) Изобретатель:

**Цзоу Чэньдун, Тай Хэй, Ван Гуйцзян,
Сяо Вань, Хуан Суй (CN)**

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

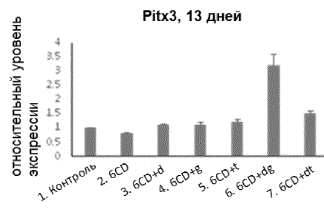
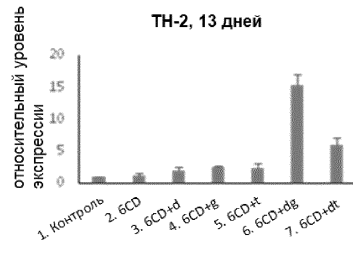
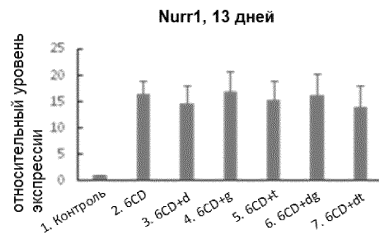
(57) В настоящем изобретении описаны каннабиноидная композиция и ее применение для получения лекарственного средства для лечения нейродегенеративных заболеваний с целью устранения существующих проблем, заключающихся в большом количестве побочных эффектов и снижении терапевтической эффективности после длительного применения лекарственного средства для лечения нейродегенеративных заболеваний. Предложенная каннабиноидная композиция содержит каннабидиол и каннабигерол, которые находятся в массовом соотношении 1:1-1:10, или 1:0,3-1:0,5, или 1:0,5-1:0,7, или 1:0,7-1:1. В соответствии с настоящим изобретением, благодаря использованию экспериментального способа индуцирования дифференцировки фибробластов в дофаминергические нейроны для наблюдения за морфологией и количеством клеток после индукции дифференцировки клеток и обнаружения уровней экспрессии факторов, связанных с DA, а также для скрининга эффектов различных распространенных каннабиноидов и их комбинаций по их влиянию на индуцирование дифференцировки фибробластов в дофаминергические нейроны было обнаружено, что комбинация CBD+CBG обеспечивает оптимальный эффект в отношении улучшения способности к выживанию и дофамин-секретирующей способности дофаминергических нейронов, не содержит вызывающего зависимость вещества ТНС и, таким образом, значительно снижает побочные эффекты лекарственного средства и может быть использована для получения лекарственного средства для лечения нейродегенеративных заболеваний.

A1

202490028

202490028

A1



КАННАБИНОИДНАЯ КОМПОЗИЦИЯ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ТАКИХ КАК БОЛЕЗНЬ ПАРКИНСОНА И БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0001] Настоящее изобретение относится к области лекарственных средств и, более конкретно, относится к каннабиноидной композиции и ее применению для получения лекарственного средства для лечения нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Нейродегенеративные заболевания, включая болезнь Паркинсона (PD), болезнь Альцгеймера (AD) и деменцию с тельцами Леви (DLB), представляют собой растущее бремя болезней для пожилых людей. Среди людей в возрасте 80 лет или старше каждый второй страдает от AD, смертность от которой уступает только сердечным приступам, опухолям и инсультам. Показатель распространенности PD составляет 1% ~ 2% среди людей в возрасте 65 лет или старше и около 4% среди людей в возрасте 85 лет или старше.

[0003] Благодаря долгосрочным исследованиям постепенно выявлено, что такие нейродегенеративные заболевания связаны с нарушениями метаболизма дофамина и уменьшением секретирующих дофамин нервных клеток, вызванным их потерей. Типичными патологическими изменениями при AD являются невритические бляшки вне нейронов и фибриллярные клубки внутри нейронов. В настоящее время AD лечат, главным образом, ингибитором холинэстеразы. Однако было обнаружено, что в течении AD участвует также дофамин в качестве нейротрансмиттера. При вскрытии пациентов с AD можно увидеть снижение уровней дофамина, L-ДОФА и метаболитов в таких областях как полосатое тело, миндалина и черная субстанция.

[0004] Характерные патологические изменения при PD включают дегенерацию и гибель массивных дофаминергических (DA) нейронов в мезэнцефалической черной субстанции и образование телец Леви в цитоплазме оставшихся нейронов. В настоящее время традиционные методы лечения PD включают, в основном, медикаментозную терапию и хирургическое лечение.

Медикаментозные способы лечения включают дофамин-замещающую терапию, антихолинергические средства, агонисты дофаминовых рецепторов, ингибиторы моноаминоксидазы, ингибиторы катехол-о-метилтрансферазы, антагонисты глутаматных рецепторов и т. д., при этом распространенным лекарственным средством для лечения РД является леводопа. Леводопа считается наиболее эффективным лекарственным средством для лечения РД. Однако длительное применение многих лекарственных средств, включая леводопу, не только вызывает снижение эффективности, но и приводит к различным осложнениям, таким как феномен «включения-выключения», феномен истощения эффекта дозы и дискинезия.

[0005] Таким образом, необходимо лекарственное средство с заметной и длительной эффективностью и небольшими побочными эффектами.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] В вариантах реализации настоящего изобретения предложена каннабиноидная композиция и ее применение для получения лекарственного средства для лечения нейродегенеративных заболеваний с целью решения вышеуказанных и других проблем, характерных для обычных лекарственных средств для лечения нейродегенеративных заболеваний, таких как тяжелые побочные эффекты и снижение эффективности после длительного применения.

[0007] Каннабидиол, или CBD, представляет собой нетоксичное фенольное соединение, экстрагированное из цветов и листьев конопли, которое имеет высокую добавленную стоимость и может применяться в лекарственных средствах, косметике и продуктах для здорового питания. В настоящее время CBD используется в качестве активного фармацевтического ингредиента, и в США и Великобритании было разработано множество специализированных лекарственных средств на основе CBD. Как не вызывающий привыкания ингредиент, содержащийся в конопле, CBD может подавлять влияние ТНС (тетрагидроканнабинола) на нервную систему человека и обладает фармакологической активностью, такой как активность против спастичности, против ревматического артрита и против тревожности. Сообщалось также о его применении для лечения РД; однако терапевтический эффект от применения только CBD не является удовлетворительным. Несмотря на то, что были изучены также составные каннабиноидные композиции, большинство таких композиций

содержат ТНС, вызывающее привыкание вещество. Учитывая, что в разных странах ТНС в большей или меньшей степени контролируется, важнее разработать новый терапевтический препарат без ТНС, который обладает хорошим терапевтическим эффектом и незначительными побочными эффектами.

[0008] Каннабинол, или СBN, представляет собой каннабиноид, получаемый в результате окисления и разложения ТНС, со значительно сниженной психоактивностью.

[0009] Каннабигерол, или СBG, является предшественником других каннабиноидов (таких как CBD и ТНС), который характеризуется высоким терапевтическим эффектом, отсутствием психотоксичности или других побочных эффектов. В настоящее время, несмотря на то, что были проведены обширные исследования применения CBD и ТНС для лечения нейродегенеративных заболеваний, существует мало сообщений и исследований о терапевтическом действии СBG.

[0010] С учетом вышеизложенного, первой задачей настоящего изобретения является обеспечение каннабиноидной композиции, содержащей: каннабидиол и каннабигерол, причем массовое отношение каннабидиола к каннабигеролу составляет от 1:1 до 1:10, или от 1:0,3 до 1:0,5, или от 1:0,5 до 1:0,7, или от 1:07 до 1:1.

[0011] Предпочтительно, массовое отношение каннабидиола к каннабигеролу составляет от 1:1 до 1:3, или от 1:3 до 1:5, или от 1:5 до 1:7.

[0012] Предпочтительно, каннабиноидная композиция дополнительно содержит каннабинол.

[0013] Предпочтительно, массовое отношение каннабидиола к каннабинолу составляет от 1:0,05 до 1:1.

[0014] Предпочтительно, массовое отношение каннабидиола к каннабинолу составляет от 1:0,1 до 1:0,5.

[0015] Предпочтительно, массовое соотношение между каннабидиолом, каннабигеролом и каннабинолом составляет 1:3:0,3.

[0016] Другой задачей настоящего изобретения является обеспечение применения каннабиноидной композиции для получения лекарственного средства для лечения нейродегенеративных заболеваний.

[0017] Предпочтительно, нейродегенеративные заболевания включают болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и деменцию с тельцами Леви;

[0018] каннабиноидную композицию применяют для стимулирования развития и созревания дофаминергических нейронных клеток, предотвращения потери дофаминергических нейронных клеток и повышение жизнеспособности дофаминергических нейронных клеток;

[0019] каннабиноидную композицию применяют для усиления дофамин-секретирующей способности дофаминергических нейронных клеток.

[0020] Еще одной задачей настоящего изобретения является обеспечение фармацевтической композиции для лечения нейродегенеративных заболеваний, содержащей указанную каннабиноидную композицию и фармацевтически приемлемый носитель.

[0021] Лекарственная форма фармацевтической композиции включает: маслянистое средство, гранулу, таблетку, порошок, капсулу, пилюлю, порошкообразное средство, жидкость для перорального приема, гель, спрей и аэрозоль.

[0022] Еще одной задачей настоящего изобретения является обеспечение фармацевтического набора для лечения нейродегенеративных заболеваний, при этом фармацевтический набор содержит указанную каннабиноидную композицию.

[0023] По сравнению с известным уровнем техники, настоящее изобретение обеспечивает следующие полезные эффекты:

[0024] (1) В настоящем изобретении использован экспериментальный способ индуцирования дифференцировки фибробластов в дофаминергические нейроны, при этом путем наблюдения за морфологией клеток, количеством и относительным уровнем экспрессии фактора, связанного с DA, в индуцированных дифференцировкой и культивированных фибробластах и скрининга различных распространенных каннабиноидов и их различных комбинаций по их влиянию на индуцирование дифференцировки фибробластов в дофаминергические нейроны было обнаружено, что комбинация CBD+CBG обеспечивает оптимальный эффект улучшения жизнеспособности и дофамин-секретирующей способности дофаминергических нейронных клеток, который может быть использован для получения лекарственных средств для лечения нейродегенеративных заболеваний, например болезни Паркинсона. При дальнейшей разработке экспериментов с комбинациями CBD и CBG в различных соотношениях было обнаружено, что комбинация CBD+CBG обеспечивает

лучший эффект и безопасность, если массовое отношение CBD к CBG составляет от 1:1 до 1:5, причем оптимальное массовое отношение составляет 1:3.

[0025] (2) Комбинация CBD+CBG обеспечивает оптимальный эффект и не содержит вызывающего привыкание вещества ТНС, таким образом, значительно уменьшая побочные эффекты после применения в качестве лекарственных ингредиентов; поскольку злоупотребление таким лекарственным средством не вызывает беспокойства, устраняется основной барьер при его применении.

[0026] (3) Композиция CBD+CBG, предложенная в настоящем изобретении, может значительно улучшать относительные уровни экспрессии Pitx3 и TH-2, то есть улучшать жизнеспособность дофаминергических нейронных клеток и их способность секретировать дофамин. Такой механизм действия лучше, чем обычные варианты лечения PD (например, леводопа для перорального применения). Длительное введение композиции CBD+CBG не вызывает побочных эффектов, подобных побочным эффектам применения леводопы, а терапевтический эффект не ухудшается. При этом благодаря иному механизму действия композицию CBD+CBG теоретически можно вводить совместно с такими лекарственными средствами как леводопа, достигая лучшего терапевтического эффекта или значительно задерживая возникновение побочных эффектов, характерных для длительного введения леводопы.

[0027] (4) В настоящем изобретении дополнительно разработаны эксперименты с комбинациями различных пропорций CBD+CBG+CBN, при этом установлено, что добавление CBN дополнительно усиливает эффект каннабиноидной композиции в отношении активации жизнеспособности дофаминергических нейронных клеток, при этом эффект активации жизнеспособности дофаминергических нейронных клеток является оптимальным, когда CBD:CBG:CBN (массовое соотношение) составляет 1:3:0,3.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0028] Фиг. 1 представляет собой не чертеж, а микрофотографию, демонстрирующую клеточную морфологию дифференцированных и культивированных фибробластов HDF38 на 13^й день в первом примере настоящего изобретения.

[0029] На фиг. 2 показаны относительные уровни экспрессии факторов, связанных с DA, в соответствующих группах клеток в первом примере настоящего изобретения, где:

[0030] А относится к результату обнаружения экспрессии Nurr1;

[0031] В относится к результату обнаружения экспрессии TH-2;

[0032] С относится к результату обнаружения экспрессии Pitx3.

[0033] На фиг. 1~2 контроль обозначает группу недифференцированных клеток; 6CD обозначает контрольную группу дифференцированных клеток; 6CD+d обозначает группу дифференцированных клеток + CBD; 6CD+g обозначает группу дифференцированных клеток + CBG; 6CD+t обозначает группу дифференцированных клеток + THС; 6CD+dg обозначает группу дифференцированных клеток +CBD +CBG; 6CD+dt обозначает группу дифференцированных клеток + CBD +THС.

[0034] Фиг. 3 представляет собой не чертеж, а микрофотографию, демонстрирующую клеточную морфологию дифференцированных и культивированных фибробластов HDF38 во втором примере настоящего изобретения, где:

[0035] А представляет собой изображение морфологии клеток на 4^й день индукции и культивирования;

[0036] В представляет собой изображение морфологии клеток на 7^й день индукции и культивирования;

[0037] С представляет собой изображение морфологии клеток на 13^й день индукции и культивирования.

[0038] Фиг. 4 иллюстрирует относительные уровни экспрессии факторов, связанных с DA, в соответствующих группах клеток во втором примере настоящего изобретения, где:

[0039] А обозначает результат обнаружения экспрессии Nurr1;

[0040] В обозначает результат обнаружения экспрессии TH-2;

[0041] С обозначает результат обнаружения экспрессии Pitx3.

[0042] На фиг. 3-4 контроль обозначает группу недифференцированных клеток; 6CD обозначает контрольную группу дифференцированных клеток; 6CD + dg0,1 обозначает добавление CBD и CBG в массовом соотношении 1:0,1; 6CD + dg0,3 обозначает добавление CBD+CBG в массовом соотношении 1:0,3; CBD + dg0,5 обозначает добавление CBD и CBG в массовом соотношении 1:0,5; 6CD +

dg0,7 обозначает добавление CBD и CBG в массовом соотношении 1:0,7; 6CD+ dg1 означает добавление CBD и CBG в массовом отношении 1:1; 6CD+ dg3 означает добавление CBD и CBG в массовом отношении 1:3; 6CD+ dg5 означает добавление CBD и CBG в массовом отношении 1:5; 6CD+ dg7 означает добавление CBD и CBG в массовом отношении 1:7; 6CD+ dg10 означает добавление CBD+CBG в массовом отношении 1:10; и 6CD+dt означает группу дифференцированных клеток +CBD+THC.

[0043] Фиг. 5 иллюстрирует относительные уровни экспрессии факторов, связанных с DA, в соответствующих группах клеток в третьем примере настоящего изобретения, где:

[0044] А обозначает результат обнаружения экспрессии Nurr1;

[0045] В обозначает результат обнаружения экспрессии TH-2;

[0046] С обозначает результат обнаружения экспрессии Pitx3.

[0047] На фиг. 5 контроль обозначает группу недифференцированных клеток; 6CD обозначает контрольную группу дифференцированных клеток; 6CD+ dg1 обозначает добавление CBD и CBG в массовом соотношении 1:1; 6CD + dg1 + n0,1 обозначает добавление CBD, CBG и CBN в массовом соотношении 1:1:0,1; 6CD + dg1 + n0,3 обозначает добавление CBD, CBG и CBN в массовом соотношении 1:1:0,3; 6CD+ dg1 + n0,5 обозначает добавление CBD, CBG и CBN в массовом соотношении 1:1:0,5; 6CD+dg3 означает добавление CBD и CBG в массовом отношении 1:3; 6CD + dg3 + n0,1 означает добавление CBD, CBG и CBN в массовом отношении 1:3:0,1; 6CD + dg3 + n0,3 означает добавление CBD, CBG и CBN в массовом отношении 1:3:0,3; 6CD + dg3 + n0,5 означает добавление CBD, CBG и CBN в массовом отношении 1:3:0,5.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0048] Далее техническое решение настоящего изобретения будет дополнительно проиллюстрировано посредством вариантов реализации со ссылкой на прилагаемые чертежи.

[0049] Согласно вариантам реализации настоящего изобретения предложена каннабиноидная композиция, содержащая: каннабидиол и каннабигерол, массовое отношение каннабидиола к каннабигеролу составляет от 1:1 до 1:10; предпочтительно, массовое отношение каннабидиола к каннабигеролу составляет от 1:1 до 1:3, или от 1:3 до 1:5, или от 1:5 до 1:7; более

предпочтительно, массовое отношение каннабидиола к каннабигеролу составляет 1:3.

[0050] Каннабиноидная композиция дополнительно содержит каннабинол, массовое отношение каннабидиола к каннабинолу составляет от 1:0,05 до 1:1; предпочтительно массовое отношение каннабидиола к каннабинолу составляет от 1:0,1 до 1:0,5; более предпочтительно массовое отношение между каннабидиолом, каннабигеролом и каннабинолом составляет 1:3:0,3.

[0051] Эксперименты показали, что каннабиноидная композиция согласно настоящему изобретению может, с одной стороны, способствовать развитию и созреванию дофаминергических нейронных клеток, предотвращать потерю дофаминергических нейронных клеток и повышать жизнеспособность дофаминергических нейронных клеток; и, с другой стороны, может усиливать дофамин-секретирующую способность дофаминергических нейронных клеток. Таким образом, предложенную каннабиноидную композицию можно применять для получения лекарственных средств для лечения нейродегенеративных заболеваний, при этом нейродегенеративные заболевания включают болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и деменцию с тельцами Леви.

[0052] Согласно вариантам реализации настоящего изобретения дополнительно предложена фармацевтическая композиция для лечения нейродегенеративных заболеваний, содержащая каннабиноидную композицию согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

[0053] Специалистам в данной области техники известны подходящие фармацевтически приемлемые носители. Подробные сведения о фармацевтически приемлемых носителях можно найти в публикации Remington's Pharmaceutical Sciences. Фармацевтически приемлемые носители для композиций могут включать жидкость, такую как вода, фосфатный буфер, раствор Рингера, физиологический солевой раствор, сбалансированный солевой раствор, глицерин или сорбит и т. д. Кроме того, носители могут дополнительно включать вспомогательные вещества, такие как смазывающие вещества, способствующие скольжению вещества, смачивающие агенты или эмульгаторы, буферные вещества и стабилизаторы pH, например, альбумин. При использовании для млекопитающих (таких как люди) применяют безопасное и эффективное количество каннабиноидной композиции. Конечно, конкретная дозировка также должна учитывать такие факторы как способ введения и состояние здоровья

пациента, которые технически известны квалифицированным врачам. Точная эффективная доза для субъекта зависит от телосложения и состояния здоровья субъекта, природы и тяжести заболевания, а также от терапевтического агента и/или комбинации терапевтических агентов, выбранных для введения. Для данного состояния эффективная доза может быть определена с помощью обычных экспериментов и может быть вычислена клиницистами.

[0054] Лекарственная форма фармацевтической композиции включает: маслянистое средство, гранулу, таблетку, порошок, капсулу, пилюлю, порошкообразное средство, жидкость для перорального приема, гель, спрей и аэрозоль.

[0055] В вариантах реализации настоящего изобретения дополнительно предложен фармацевтический набор для лечения нейродегенеративных заболеваний, при этом фармацевтический набор содержит каннабиноидную композицию или фармацевтическую композицию в соответствии с настоящим изобретением.

[0056] Для облегчения клинического применения фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению может быть включена в инъекционный аппликатор (такой как инъекционная игла), и инъекционный аппликатор может содержать однократную дозу фармацевтической композиции. Инъекционный аппликатор может быть включен в фармацевтический набор для облегчения хранения и применения. Фармацевтический набор согласно настоящему изобретению также может содержать инструкцию по применению для облегчения надлежащего применения специалистами в данной области техники.

[0057] Далее экспериментальные процессы и экспериментальные результаты настоящего изобретения будут подробно проиллюстрированы посредством вариантов реализации со ссылкой на прилагаемые графические материалы, подробно описывающие активацию дофаминергических нейронных клеток каннабиноидной композицией согласно настоящему изобретению, а также получение лекарственных средств, применимых для лечения нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и деменцию с тельцами Леви.

Соответствующие тестируемые белки в примерах:

[0058] Nurr1: белок 1, родственный ядерному рецептору, который является членом суперсемейства ядерных рецепторов внутриклеточных факторов транскрипции и имеет решающее значение для поддержания дофаминергической системы головного мозга. Мутация этого гена связана с дофаминергическими дисфункциями, включая болезнь Паркинсона, шизофрению и маниакально-депрессивный психоз. Считается, что белок Nurr1 необходим для развития дофаминергического фенотипа среднего мозга.

[0059] Pitx3: белок, транскрибируемый из гена PITX3. Pitx3 специфически экспрессируется в церебральных дофаминергических нейронах, играет важнейшую роль в дифференцировке и созревании церебральных дофаминергических нейронов и считается фактором транскрипции, необходимым для специфического развития дофаминергических нейронов среднего мозга.

[0060] TH: Тирозингидроксилаза, которая является ключевым ферментом в биосинтезе дофамина. PD представляет собой нейродегенеративное заболевание, вызванное тяжелым дефицитом дофамина в черной субстанции и полосатом теле. Регуляция экспрессии TH играет важную роль для развития и лечения PD.

[0061] В процессе дифференцировки в дофаминергические нейронные клетки после поддержания экспрессии Nurr1 на определенном уровне сначала экспрессируются TH и Pitx3. Поскольку только экспрессия Nurr1 может вызывать экспрессию маркерных генов TH и Pitx3 для содействия дальнейшей дифференцировке и созреванию клеток. Поэтому в определенной степени экспрессия TH и Pitx3 является более важной, поскольку их способность к экспрессии может лучше отражать жизнеспособность дофаминергических нейронных клеток.

Пример 1

Способ проведения эксперимента

1. Получение культуральных сред

[0062] Базальная среда 1: среда DMEM, содержащая 10% FBS и 1% пенициллина-стрептомицина.

[0063] Базальная среда 2: Нейробазальная среда, содержащая 1% добавки N-2 и 1% пенициллин-стрептомицин-глутамин.

[0064] Индукционная среда 1: Нейробазальная среда, содержащая 1% добавки N-2, 1% пенициллин-стрептомицин-глутамин, 5% глутамин, 1% B27,

10 нг/мл bFGF, 20 нг/мл EFG, 50 нг/мл GDNF, 2 мкМ RA; 10 мкМ SB431542; 200 нг/мл Noggin.

[0065] Индукционная среда 2: Нейробазальная среда, содержащая 1% добавки N-2, 1% пенициллин-стрептомицин-глутамин, 1% B27, 10 нг/мл bFGF, 20 нг/мл EFG, 50 нг/мл GDNF, 2 мкМ RA; 100 нг/мл SHH; 100 нг/мл FGF8b.

[0066] Культуральные среды получали в соответствии с вышеуказанными формулами; затем полученные культуральные среды стерилизовали, пропуская через мембранные фильтры, для последующего применения.

2. Культивирование фибробластов HDF38

[0067] После оживления и культивирования приобретенных фибробластов HDF38 их пересевали в семь 6 см культуральных чашек, содержащих базальную среду 1, при этом каждая культуральная чашка содержала 80000 фибробластов HDF38, которые культивировали в инкубаторе с 5% CO₂ при 37 °С. Через 3 дня культивирования проводили индуцированную дифференцировку клеток.

3. Индукция дифференцировки фибробластов HDF38

[0068] **Способ проведения эксперимента:** клетки удаляли из базальной среды 1 и 3 раза промывали PBS для смывания остаточной среды. Затем клетки индуцировали для дифференцировки и культивировали: сначала использовали индукционные среды 1, содержащие соответствующие тестируемые лекарственные средства, причем жидкости полностью заменяли каждые 2,5 дня; культивирование на этой стадии продолжалось 7 дней; через 7 дней культуральные среды заменяли на индукционные среды 2, содержащие соответствующие тестируемые лекарственные средства, причем жидкости полностью заменяли каждые 3 дня; культивирование на этой стадии продолжалось 6 дней.

[0069] В процессе индуцированной дифференцировки ежедневно наблюдали морфологические изменения клеток с помощью микроскопа (ZEISS AXIO Observer) и фотографировали для учета. Серийные номера для 7 экспериментов и ингредиенты культуральных сред приведены ниже в таблице 1.

Таблица 1: Дизайн эксперимента с различными каннабиноидами и их комбинациями

№	№ группы	Культуральная среда	Добавленное тестируемое лекарственное средство
---	----------	---------------------	--

1	Группа недифференцированных клеток	Базальная среда 2	н/о
2	Контрольная группа дифференцированных клеток	Индукционные среды 1, 2	н/о
3	Группа дифференцированных клеток + CBD	Индукционные среды 1, 2	CBD (1 мкг/10 мл культуральной среды)
4	Группа дифференцированных клеток + CBG	Индукционные среды 1, 2	CBG (1 мкг/10 мл культуральной среды)
5	Группа дифференцированных клеток + THC	Индукционные среды 1, 2	THC (0,2 мкг/10 мл культуральной среды)
6	Группа дифференцированных клеток + CBD + CBG	Индукционные среды 1, 2	CBD (1 мкг/10 мл культуральной среды) и CBG (1 мкг/10 мл культуральной среды)
7	Группа дифференцированных клеток + CBD+ THC	Индукционные среды 1, 2	CBD (1 мкг/10 мл культуральной среды) и THC (0,2 мкг/10 мл культуральной среды)

[0070] Примечание: раствор CBG и раствор CBD приобретали у компании SIGMA-ALDRICH, а Δ^9 -THC приобретали у компании FUJIFILM.

4. Обнаружение относительного уровня экспрессии факторов, связанных с DA.

[0071] По истечении 13 дней индуцированной дифференцировки и культивирования клетки собирали и экстрагировали из клеток тотальную РНК с использованием общего реагента TRIzol (Tiangen Biotech, Пекин, Китай), и синтезировали из тотальной РНК комплементарную ДНК (кДНК). Относительные уровни экспрессии факторов Nurr1, TH-2 и Pitx3, связанных с

DA, в клетках обнаруживали с помощью количественной ПЦР в реальном времени с флуоресцентным красителем SYBR Green.

[0072] Использовали следующие амплифицированные сегменты праймера:

[0073] Последовательность праймера гена *Nurr1*:

[0074] F: 5'-ACTGCCGATTTTCAGAAGTGC-3' (SEQ ID NO:1),

[0075] R: 5'-CCGGCSTTTTAAACTGTCTGTG-3' (SEQ ID NO:2);

[0076] Последовательность праймера гена *TH*:

[0077] F: 5'-GAGTACACCGCCGAGGAGATTG-3' (SEQ ID NO:3),

[0078] R: 5'-GCGGATATACTGGGTGCACTGG-3' (SEQ ID NO:4);

[0079] Последовательность праймера гена *Pitx3*:

[0080] F: 5'-AGCACAGCGACTCAGAAAAG-3' (SEQ ID NO:5),

[0081] R: 5'-TTTTTCAGCGAACCGTCCTC-3' (SEQ ID NO:6).

[0082] Условия реакции кПЦР-РВ включали: 95 °С, 10 минут; 95 °С, 15 секунд; 30 °С, 1 минута; 40 циклов. После прекращения реакции анализировали мРНК представляющего интерес гена и эталонного гена.

(2) Результаты эксперимента:

1. Влияние каннабиноидной композиции на индуцированную дифференцировку клеток

[0083] Морфологию клеток в соответствующих группах культур изучали под микроскопом. Результаты показаны на фигуре 1: фибробласты HDF38 были успешно дифференцированы в дофаминергические нейроны, а клетки, индуцированные и культивированные с добавлением лекарственных средств на основе каннабиноидов, были дифференцированы в большее количество дофаминергических нейронов. Вышеуказанные результаты свидетельствуют о том, что лекарственные средства на основе каннабиноидов могут стимулировать дифференцировку фибробластов HDF38 в дофаминергические нейроны, при этом группа CBD+CBG имеет наибольшее количество дофаминергических нейронов, что указывает на то, что композиция CBD+CBG оказывает самое сильное влияние на стимулирование дифференцировки фибробластов в дофаминергические нейроны.

2. Влияние каннабиноидной композиции на экспрессию факторов, связанных с DA

[0084] Как показано на фиг. 2, все шесть групп дифференцированных и культивированных клеток успешно экспрессировали маркерные гены

дофаминергических нейронов Nurr1, TH-2 и Pitx3, среди которых уровни экспрессии Nurr1 в шести группах индуцированных клеток были заметно выше, чем в контрольной группе, что указывает на то, что в данном эксперименте фибробласты HDF38 были успешно индуцированы для дифференцировки в дофаминергические нейроны (см. А на фиг. 2).

[0085] После успешной экспрессии Nurr1 затем были экспрессированы маркерные гены TH-2 и Pitx3. Способность к экспрессии указанных двух генов может лучше отражать жизнеспособность и жизнестойкость дофаминергических нейронов. Результаты показали, что уровни экспрессии TH-2 и Pitx3 в группе CBD+CBG и группе CBD+THC, очевидно, превосходят уровни экспрессии в других группах, что указывает на то, что по сравнению с лекарственной формой, содержащей одно лекарственное средство, ингредиенты в каждой из двух видов комбинаций лекарственных средств имеют синергетический эффект друг с другом и, таким образом, могут быть более эффективными в отношении стимулирования развития, созревания и способности к секреции дофаминергических нейронов, причем уровень экспрессии TH-2 в группе CBD+CBG примерно в 3 раза выше, чем в группе CBD+THC, а уровень экспрессии Pitx3 в первой примерно в 2 раза выше, чем в последней, что показывает, что по сравнению с группой CBD+THC группа CBD+CBG может более эффективно повышать жизнеспособность дофаминергических нейронных клеток (см. В и С на фиг. 2); кроме того, поскольку CBG не обладает психоактивностью и не вызывает зависимость, побочный эффект группы CBD+CBG значительно снижается.

Пример 2: Влияние композиций, содержащих различные соотношения CBD+CBG, на индуцированную дифференцировку клеток

[0086] В примере 1 показано, что комбинация CBD + CBG имела оптимальный эффект в отношении повышения жизнеспособности и способности к секреции дофаминергических нейронов; однако в примере 1 показано только влияние комбинации CBD + CBG с массовым соотношением 1:1. Поэтому были разработаны эксперименты с композициями, содержащими различные соотношения CBD+CBG, для поиска пропорциональной комбинации, которая имела бы оптимальный эффект в отношении активации дофаминергических нейронов.

(1) Способ проведения эксперимента

1. Получение культуральных сред

[0087] Базальную среду 1, базальную среду 2, индукционную среду 1 и индукционную среду 2 получали в соответствии с рецептурами, описанными в примере 1, соответственно; а затем полученные среды стерилизовали с помощью мембранных фильтров для последующего применения.

2. Культивирование фибробластов HDF38

[0088] После оживления и культивирования приобретенных фибробластов HDF38 их пересевали в двенадцать 6 см культуральных чашек, содержащих базальную среду 1, при этом каждая культуральная чашка содержала 80000 фибробластов HDF38, которые культивировали в инкубаторе с 5% CO₂ при 37 °С. Через 3 дня культивирования проводили индуцированную дифференцировку клеток.

3. Индукция дифференцировки фибробластов HDF38

[0089] Вышеуказанные клетки разделяли на 12 групп для проведения индуцированной дифференцировки. Способ проведения эксперимента был таким же, как и соответствующие операции в примере 1. Схемы различных соотношений CBD и CBG показаны ниже в таблице 2, при этом CBD добавляли в виде раствора с концентрацией 1 мкг/10 мл среды.

Таблица 2: Дизайн экспериментов с различными пропорциями комбинаций

CBD+CBG

№	№ группы	Культуральная среда	Лекарственные средства, подлежащие тестированию, и их пропорции (массовое соотношение)
1	Группа недифференцированных клеток	Базальная среда 2	н/о
2	Контрольная группа дифференцированных клеток	Индукционные среды 1, 2	н/о
3	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 0,1 CBG		CBD:CBG=1:0,1
4	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 0,3 CBG		CBD:CBG=1:0,3

5	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 0,5 CBG		CBD:CBG=1:0,5
6	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 0,7 CBG		CBD:CBG=1:0,7
7	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + CBG		CBD:CBG=1:1
8	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 3 CBG		CBD:CBG=1:3
9	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 5 CBG		CBD:CBG=1:5
10	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 7 CBG		CBD:CBG=1:7
11	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 10 CBG		CBD:CBG=1:10
12	Группа дифференцированных клеток + CBD + THC		CBD (1 мкг/10 мл культуральной среды) и THC (0,2 мкг/10 мл культуральной среды)

[0090] В процессе индуцированной дифференцировки каждый день изучали изменения клеток под микроскопом (ZEISS AXIO Observer) и регистрировали с помощью фотографий.

4. Обнаружение относительного уровня экспрессии факторов, связанных с DA.

[0091] По истечении 13 дней индуцированной дифференцировки и культивирования клетки собирали и экстрагировали из клеток тотальную РНК с использованием общего реагента TRIzol (Tiangen Biotech, Пекин, Китай), и синтезировали из тотальной РНК комплементарную ДНК (кДНК). Относительные уровни экспрессии факторов Nurr1, TH-2 и Pitx3, связанных с DA, в клетках обнаруживали с помощью количественной ПЦР в реальном времени с флуоресцентным красителем SYBR Green.

(2) Результаты эксперимента:

[0092] На фиг. 3 А~С показана морфология клеток каждой группы на 4^й, 7^й и 13^й день индуцирования культуры, соответственно. Результаты свидетельствуют о том, что на 4^й день индуцирования культуры в клетках каждой группы культур можно было наблюдать выработку нейронов, и количество нейронов росло с увеличением количества CBG, добавляемого в лекарственное средство, что

указывает на то, что высокая концентрация CBG может увеличивать скорость индуцирования фибробластов для дифференцировки в нейроны (фигура 3А). Однако через одну неделю индуцирования культуры клетки двух групп (с массовым соотношением 1:7 и 1:10, соответственно) с высокой концентрацией CBG погибали в различной степени, в то время как клетки в других группах индуцированной дифференцировки не погибали, что указывает на то, что высокая концентрация CBG вызывала бы лекарственную токсичность, а затем приводила к гибели клеток. Таким образом, на основании концентрации CBD в данном эксперименте безопасное массовое отношение CBD к CBG в каннабиноидной композиции не превышает 1:5 (В и С на фиг. 3).

[0093] Фиг. 4 представляет собой сравнительную диаграмму уровней экспрессии факторов, связанных с DA, в соответствующих группах клеток. Как показано на фиг. 4, когда массовые соотношения CBD и CBG составляют 1:1, 1:3 и 1:5, соответственно, уровни экспрессии TH-2 и Pitx3 заметно выше, чем в контрольной группе и других экспериментальных группах, где уровни экспрессии TH-2 и Pitx3 являются самыми высокими, когда соотношение составляет 1:3.

Пример 3: Влияние композиций, содержащих различные соотношения CBD+CBG+CBN, на дифференцировку клеток

[0094] В примере 2 показано, что при массовом отношении CBD к CBG 1:1 и 1:3 достигается лучший эффект активации дофаминергических нейронов. Таким образом, на основе двух указанных соотношений были дополнительно разработаны эксперименты с комбинациями, содержащими различные соотношения CBD, CBG и CBN, для поиска оптимальной комбинации и соотношения для активации дофаминергических нейронов.

(1) Способ проведения эксперимента

1. Получение культуральных сред

[0095] Базальную среду 1, базальную среду 2, индукционную среду 1 и индукционную среду 2 получали в соответствии с рецептурами, описанными в примере 1, соответственно; полученную среду стерилизовали с помощью мембранных фильтров для последующего применения.

2. Культивирование фибробластов HDF38

[0096] После оживления и культивирования приобретенных фибробластов HDF38 их пересевали в десять 6 см культуральных чашек, содержащих

базальную среду 1, при этом каждая культуральная чашка содержала 80000 фибробластов HDF38, которые культивировали в инкубаторе с 5% CO₂ при 37 °С. Через 3 дня культивирования проводили индуцированную дифференцировку клеток.

3. Индукция дифференцировки фибробластов HDF38

[0097] Вышеуказанные клетки разделяли на 10 групп для проведения индуцированной дифференцировки. Способ проведения эксперимента был таким же, как и соответствующие операции в примере 1. Схемы различных соотношений CBD и CBG показаны ниже в таблице 3, при этом CBD добавляли в виде раствора с концентрацией 1 мкг/10 мл среды.

Таблица 3: Дизайн экспериментов с различными пропорциями комбинации

CBD+CBG+CBN

№	№ группы	Культуральная среда	Лекарственные средства, подлежащие тестированию, и их пропорции (массовое соотношение)
1	Группа недифференцированных клеток	Базальная среда 2	н/о
2	Контрольная группа дифференцированных клеток	Индукционные среды 1, 2	н/о
3	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 1 CBG		CBD:CBG=1:1
4	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 1 CBG + 0,1 CBN		CBD:CBG:CBN=1:1:0,1
5	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 1 CBG + 0,3 CBN		CBD:CBG:CBN=1:1:0,3
6	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 1 CBG + 0,5 CBN		CBD:CBG:CBN=1:1:0,5
7	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 3 CBG		CBD:CBG=1:3
8	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 3 CBG + 0,1 CBN		CBD:CBG:CBN=1:3:0,1

	CBN		
9	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 3 CBG + 0,3 CBN		CBD:CBG:CBN=1:3:0,3
10	Группа дифференцированных клеток + 1 CBD + 3 CBG + 0,5 CBN		CBD:CBG:CBN=1:3:0,5

[0098] В процессе индуцированной дифференцировки каждый день изучали изменения клеток под микроскопом (ZEISS AXIO Observer) и регистрировали с помощью фотографий.

4. Обнаружение относительных уровней экспрессии факторов, связанных с DA.

[0099] По истечении 13 дней индуцированной дифференцировки и культивирования клетки собирали и экстрагировали из клеток тотальную РНК с использованием общего реагента TRIzol (Tiangen Biotech, Пекин, Китай), и синтезировали из тотальной РНК комплементарную ДНК (кДНК). Относительные уровни экспрессии факторов Nurr1, TH-2 и Pitx3, связанных с DA, в клетках обнаруживали с помощью количественной ПЦР в реальном времени с флуоресцентным красителем SYBR Green.

(2) Результаты эксперимента

[00100] Фиг. 5 представляет собой сравнительную диаграмму уровней экспрессии факторов, связанных с DA, в соответствующих группах клеток. Результаты свидетельствуют о том, что добавление CBN к CBD и CBG может дополнительно повышать эффективность каннабиноидной композиции в отношении активации дофаминергических нейронных клеток. Когда массовое отношение CBD к CBG в композиции CBD+CBG+CBN составляет 1:3, уровни экспрессии TH-2 и Pitx3 выше, чем соответствующие уровни при массовом отношении CBD к CBG 1:1, что еще раз подтверждает вывод, сделанный в примере 2. Кроме того, когда CBD:CBG:CBN (массовое соотношение) составляет 1:3:0,3, уровни экспрессии TH-2 и Pitx3 были самыми высокими, с оптимальной эффективностью в отношении активации дофаминергических нейронных клеток.

[00101] Композиция №8 в примере 2 настоящего изобретения была протестирована клинически, и были проведены клинические наблюдения. Конкретные результаты представлены ниже:

1. Клинические данные

[00102] Было протестировано 14 пациентов, при этом самому молодому пациенту было 55 лет, а самому старшему - 93 года. Среди пациентов были 5 пациентов мужского пола и 9 пациентов женского пола; самый короткий патогенез составлял 1 год, а самый длинный - около 15 лет. 10 пациентов страдали от PD, и 4 - от AD. Клиническое обследование: Все случаи были диагностированы по соответствующим критериям государственных и отраслевых ассоциаций.

2. Способ лечения

[00103] Лекарственное средство (подъязычные капли, 2 мл на флакон, каждый флакон содержит активные ингредиенты 10 мг CBD + 30 мг CBG), полученное из каннабиноидной композиции № 8, описанной в примере 2 настоящего изобретения, вводили один или два раза в день, по одному разу за 0,5-1 час до сна или по одному разу, соответственно, в полдень и перед сном. Лекарственное средство вводили сублингвально, то есть наносили под язык примерно на 60 секунд, а затем проглатывали. Один курс лечения составляет четыре недели, но дозировка, используемая во время курса, варьируется в зависимости от состояния.

3. Критерии оценки терапевтических эффектов

[00104] Улучшение: пациент, независимые наблюдатели или медицинские осмотры показывают, что симптомы пациента были облегчены, и/или его/ее автономное поведение и сознание были улучшены.

[00105] Заметное улучшение: пациент, независимые наблюдатели или медицинские осмотры показывают, что симптомы пациента были заметно облегчены и/или его/ее автономное поведение и сознание были заметно улучшены (например, симптомы болезни Паркинсона улучшены со стадии 4 до стадии 3).

[00106] Незаметное изменение: пациент, независимый наблюдатель или медицинские осмотры отрицают, что симптомы были облегчены или его/ее автономное поведение и сознание улучшились после приема лекарства.

5. Результат лечения

[00107] Примерно 29% пациентов (4 пациента) продемонстрировали первоначальное улучшение симптомов в течение первой недели приема препарата, 64% пациентов (9 пациентов) продемонстрировали улучшение симптомов в течение 2 недель, а 79% пациентов (11 пациентов)

продемонстрировали заметное улучшение симптомов в течение первого курса лечения. Определенно, примерно 14% пациентов (2 пациента) не демонстрировали заметного эффекта улучшения, из которых 1 пациент принимал препарат в течение 2 недель, а другой - в течение 5 недель. Показатель улучшения составил примерно 86%.

[00108] У всех пациентов не было обнаружено явных побочных эффектов, и примерно 43% пациентов (6 пациентов) сообщили об отдельных симптомах сонливости.

[00109] Все медицинские случаи, перечисленные в настоящем изобретении, были предоставлены для предварительного доказательства эффекта настоящего изобретения на данном этапе, и пациенты добровольно согласились принимать лекарственное средство. С учетом характеристик нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера, описание анамнеза и его эффекта основывалось на описании пациентов или членов их семей, которое может быть субъективным или недостаточно строгим, но медицинские случаи и терапевтические эффекты являются реальными. Поскольку эффекты в конкретных медицинских случаях были описаны не специалистами в области медицины, то технические эффекты различных аспектов медицинских случаев не представляют собой авторитетные результаты медицинской диагностики.

[00110] Медицинский случай 1

[00111] Гао: Мужчина, 85 лет, врач на пенсии из Рижаяо, провинция Шаньдун, болезнь Паркинсона диагностирована в 2017 году.

[00112] История болезни: начало в 2012 году, медленные движения, отсутствие выразительности лица, а затем симптом становился все более и более тяжелым. Ему трудно совершать мелкие движения, конечности тугоподвижные и согнутые. При ходьбе он может делать только небольшие неравномерные шаги. Он также страдает от запоров, жирности головы и лица и т. д. В 2017 г. обследование при госпитализации: лицо будто в маске, неуверенная походка, постоянный тремор рук, избыточное мышечное напряжение конечностей, мышечная сила конечностей 5 степени. У него была диагностирована болезнь Паркинсона. После приема препарата по рекомендации врача в течение 4 лет тремор ослабел, но выражение лица не улучшилось, и постепенно заболевание перешло в тяжелую стадию с серьезным слюнотечением, медленной и

затрудненной ходьбой, неспособностью ходить без костылей и, со слов пациента, неспособностью ходить.

[00113] Лечение: Начиная с июля 2021 года, назначен прием лекарственного средства, полученного с применением композиции № 8 из примера 2 настоящего изобретения, один раз в день перед сном, по одному флакону за раз. Пациент принимал лекарство непрерывно в течение 5 недель.

[00114] Результаты: После приема препарата в течение одной недели тусклый взгляд пациента улучшился, мимика стала более оживленной. Иногда он может ходить без костылей. Состояние его конечностей и мелкие движения явно улучшились, и примерно после двухлетнего перерыва он восстановил способность самостоятельно стричь ногти и доставать таблетки из упаковки. После приема препарата пациент чувствует сонливость. Для облегчения сонливости следует пить чай.

[00115] Медицинский случай 2

[00116] Сюй: Женщина, 83 года, из Чжэнчжоу, провинция Хэнань, болезнь Паркинсона диагностирована в 2019 году.

[00117] История болезни: С 2014 года движение пациентки постепенно замедлилось, конечности стали жесткими, время сна уменьшилось, наблюдались нарушения сна и другие явления. С 2018 года ее положение явно ухудшилось, и ей было тяжело ходить, выговаривать и произносить слова, а язык было трудно контролировать. В 2019 году у нее была диагностирована болезнь Паркинсона.

[00118] Лечение: Начиная с июля 2021 года, назначен прием лекарственного средства, полученного с применением композиции № 8 из примера 2 настоящего изобретения, один раз в день перед сном, по одному флакону за раз. Она принимала лекарство непрерывно в течение 3 недель.

[00119] Результаты: Способность пациентки к самоконтролю начала улучшаться на второй неделе после приема препарата. Симптомы неконтролируемого слюнотечения и языка явно улучшились, а время самостоятельной ходьбы заметно увеличилось. Время самостоятельной ходьбы увеличилось с менее чем 10 минут до более чем 20 минут. Заметно увеличилось время ее сна, а эмоции стали стабильны.

[00120] Медицинский случай 3

[00121] Цзи: Женщина, 93 года, из Хэйлунцзян, болезнь Паркинсона диагностирована в начале 2021 года.

[00122] История болезни: С 2015 года появилась ригидность конечностей и непроизвольный тремор. В 2020 году болезнь явно обострилась. Она не могла самостоятельно ходить, подолгу оставаясь лежать в постели, часто испытывала судороги в конечностях, практически не могла совершать мелкие движения, такие как прием пищи и лекарств, была эмоционально нестабильна и раздражительна. В начале 2021 года у нее была диагностирована болезнь Паркинсона.

[00123] Лечение: С мая 2021 года назначен прием лекарственного средства, полученного с применением композиции №8 из примера 2 настоящего изобретения, один раз в день перед сном, по одному флакону за раз. Она принимала лекарство непрерывно в течение 11 недель.

[00124] Результаты: На второй неделе после приема препарата явно уменьшилась ригидность конечностей, уменьшилась частота и амплитуда непроизвольного тремора, уменьшился спазм конечностей. Через 11 недель введения пациентка могла самостоятельно стоять у стены в течение почти 5 минут. Способность четко формулировать мысль, правильно произносить слова и разговаривать с людьми была почти нормальной. Время сна увеличилось, а эмоции стали стабильными.

[00125] Медицинский случай 4

[00126] Дай: Женщина, 81 год, малазийка, болезнь Альцгеймера диагностирована в 2017 году.

[00127] История болезни: С 2014 года пациентка испытывала сильное ухудшение памяти, не могла открыть дверь ключом, любила прятать вещи и была подозрительна. С 2017 года болезнь явно обострилась, появились когнитивные нарушения. Она не могла узнавать своих родственников и друзей, и не могла вспомнить, что она только что сделала. Она использовала немедицинские методы лечения, такие как диетическое лечение и лечение с изменением образа жизни, дополненное донепезилом (арисепт). После года без явного улучшения вместо этого были приняты фитотерапия и диетотерапия, но эффект все еще был неудовлетворительным.

[00128] Лечение: С мая 2021 года назначен прием лекарственного средства, полученного с применением композиции №8 из примера 2 настоящего изобретения, один раз в день перед сном, по одному флакону за раз. Она принимала лекарство непрерывно в течение 11 недель.

[00129] Результаты: После приема в течение одной недели кратковременная память пациентки начала улучшаться, и она могла нормально общаться с медсестрой. Примерно через 3-4 недели применения ее память начала восстанавливаться, и она могла узнавать свою семью и друзей. Она принимала лекарственное средство в течение 11 недель, выздоровление шло хорошо, и она могла вспомнить, что происходило год назад. О нежелательных реакциях не сообщалось.

[00130] Медицинский случай 5

[00131] Шень: Женщина, 68 лет, из Гуандуна, болезнь Альцгеймера диагностирована в начале 2021 года.

[00132] История болезни: Пациентка поступила в стационар в начале 2021 года вследствие «потери памяти на протяжении более 3 лет, симптом усугублялся в течение полутора лет». При обычном исследовании мочи и крови, исследовании семи опухолевых маркеров и четырехкратном повреждении миокарда не было обнаружено явных патологий. КТ черепа и головного мозга: Множественный лакунарный инфаркт в двусторонних базальных ганглиях и лучистом венце; дегенерация белого вещества; атрофия головного мозга. Магнитная МРТ головного мозга: лакунарный инфаркт, дегенерация белого вещества, атрофия головного мозга. В других проверках не было явных патологий. После диагностирования у пациентки болезни Альцгеймера она принимала такие препараты как ривастигмин в капсулах и мемантин в течение примерно 4 месяцев без явного улучшения.

[00133] Лечение: С мая 2021 года назначен прием лекарственного средства, полученного с применением композиции №8 из примера 2 настоящего изобретения, один раз в день перед сном, по одному флакону за раз.

[00134] Результаты: На 3^й неделе после приема препарата у пациентки явно улучшилась кратковременная память, и она могла вспомнить события за последние 3 дня и основные события за последнюю 1 неделю. После приема в течение 11 недель ее память заметно улучшилась, а затруднения, связанные с ежедневными разговорами и памятью, явно уменьшились. Она начала спать днем, испытывая легкую сонливость.

[00135] Медицинский случай 6

[00136] Ванг: Мужчина, 87 лет, малазиец, болезнь Альцгеймера диагностирована в 2013 году.

[00137] История болезни: С 2007 года пациент испытывает потерю памяти и другие явления. В 2013 году у пациента диагностирована болезнь Альцгеймера и начато лечение. В первые два года лечения когнитивное ухудшение, такое как снижение памяти, было облегчено, но эффект быстро ослаб, и состояние продолжало ухудшаться. В течение примерно десяти лет лечение играло определенную роль в задержке ухудшения симптомов у пациентов, но оно никогда не улучшало состояние пациентов.

[00138] При первой встрече с авторами изобретения пациент не ответил на приветствия, и он не мог понять большую часть языковой семантики, например, «следует положить под язык и держать» и другие инструкции по приему лекарств. Обычно, когда он был в постели или в инвалидной коляске, он мог стоять, но у него была плохая способность к самостоятельной деятельности и практически отсутствовала способность к самообслуживанию. Плохая способность к распознаванию, неспособность узнавать своих близких.

[00139] Лечение: С июня 2021 года назначен прием лекарственного средства, полученного с применением композиции №8 из примера 2 настоящего изобретения, один раз в день перед сном, по одному флакону за раз.

[00140] Результаты: После приема в течение одной недели пациент стал более здравомыслящим и стал понимать речь, например, инструкции по приему лекарств. После приема в течение 9 недель выздоровление было хорошим. Пациент мог свободно общаться с соседями внизу, рассказывать о своей одежде и покупках. Он стал помнить номер мобильного телефона внука, и большинство обычных коммуникаций стало нормальным явлением.

[00141] Подводя итог, в настоящем изобретении использован экспериментальный способ индуцирования дифференцировки фибробластов в дофаминергические нейроны для обнаружения влияния CBD, CBG, THC и их различных комбинаций на индуцированную дифференцировку фибробластов в дофаминергические нейроны, при этом было обнаружено, что композиция CBD+CBG является оптимальной для стимулирования индуцированной дифференцировки в дофаминергические нейроны, может значительно улучшать жизнеспособность и дофамин-секретирующую способность дофаминергических нейронов и, таким образом, может быть использована для лекарственных средств для лечения нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона; кроме того, поскольку она не содержит вызывающего зависимость вещества

ТНС, то значительно снижаются побочные эффекты. Были разработаны дальнейшие эксперименты с различными пропорциями комбинации CBD + CBG, в которых было обнаружено, что когда массовое соотношение CBD и CBG составляло 1:1 ~ 1:5, каннабиноидная композиция могла существенно улучшать жизнеспособность дофаминергических нейронных клеток, а когда соотношение составляло 1:3, этот эффект был наилучшим. Были дополнительно разработаны эксперименты с различными соотношениями комбинации CBD + CBG + CBN, в ходе которых было обнаружено, что добавление CBN может дополнительно усилить эффект каннабиноидной композиции в отношении активации жизнеспособности дофаминергических нейронных клеток. Эффект активации жизнеспособности дофаминергических нейронных клеток при соотношении CBD:CBG:CBN (массовое отношение) 1:3:0,3 является оптимальным.

[00142] Несмотря на то, что содержание настоящего изобретения было подробно описано в предыдущих предпочтительных вариантах реализации, следует понимать, что приведенное выше описание не следует рассматривать как ограничение настоящего изобретения. После прочтения вышеприведенного описания специалистами в данной области техники станут очевидны многие модификации и варианты замены, которые могут быть сделаны в отношении настоящего изобретения. Таким образом, объем правовой защиты настоящего изобретения должен быть ограничен прилагаемой формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Каннабиноидная композиция, содержащая каннабидиол и каннабигерол, в которой массовое отношение каннабидиола к каннабигеролу составляет от 1:1 до 1:10, или от 1:0,3 до 1:0,5, или от 1:0,5 до 1:0,7, или от 1:07 до 1:1.

2. Каннабиноидная композиция по п. 1, отличающаяся тем, что массовое отношение каннабидиола к каннабигеролу составляет от 1:1 до 1:3, или от 1:3 до 1:5, или от 1:5 до 1:7.

3. Каннабиноидная композиция по п. 1, отличающаяся тем, что массовое отношение каннабидиола к каннабигеролу составляет 1:3.

4. Каннабиноидная композиция по п. 1, дополнительно содержащая каннабинол.

5. Каннабиноидная композиция по п. 4, отличающаяся тем, что массовое отношение каннабидиола к каннабинолу составляет от 1:0,05 до 1:1.

6. Каннабиноидная композиция по п. 4, отличающаяся тем, что массовое отношение каннабидиола к каннабинолу составляет от 1:0,1 до 1:0,5.

7. Каннабиноидная композиция по п. 4, отличающаяся тем, что массовое соотношение между каннабидиолом, каннабигеролом и каннабинолом составляет 1:3:0,3.

8. Применение каннабиноидной композиции по любому из пп. 1-7 для получения лекарственного средства для лечения нейродегенеративных заболеваний.

9. Применение по п. 8, отличающееся тем, что указанные нейродегенеративные заболевания включают болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера и деменцию с тельцами Леви.

10. Применение по п. 8, отличающееся тем, что указанную каннабиноидную композицию применяют для ускорения развития и созревания дофаминергических нейронных клеток, предотвращения потери

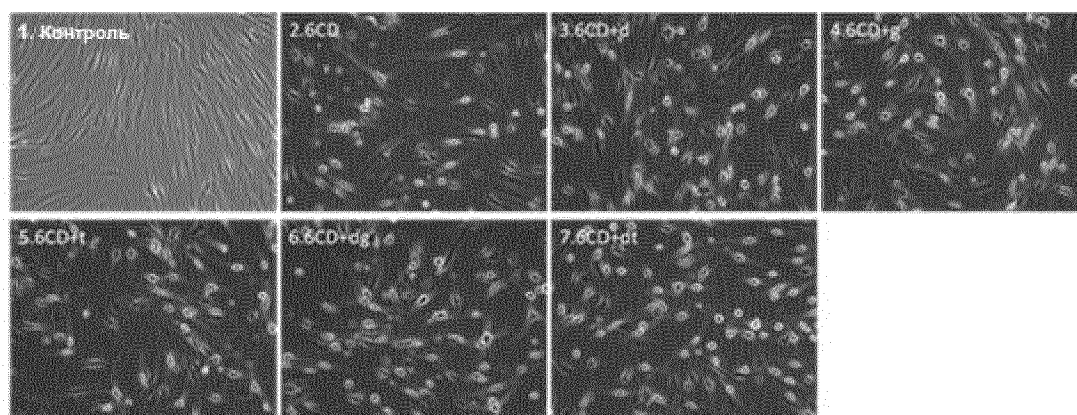
дофаминергических нейронных клеток и повышения жизнеспособности дофаминергических нейронных клеток.

11. Применение по п. 8, отличающееся тем, что указанную каннабиноидную композицию применяют для усиления способности дофаминергических нейронных клеток секретировать дофамин.

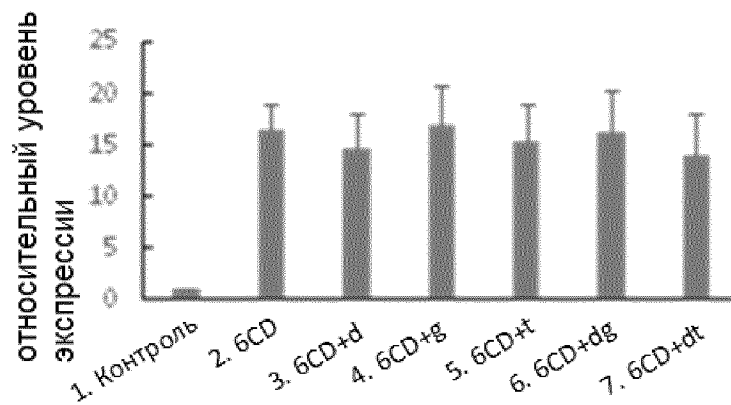
12. Фармацевтическая композиция для лечения нейродегенеративных заболеваний, содержащая каннабиноидную композицию по любому из пп. 1-7 и фармацевтически приемлемый носитель.

13. Фармацевтическая композиция по п. 12, отличающаяся тем, что лекарственная форма фармацевтической композиции включает маслянистое средство, гранулу, таблетку, порошок, капсулу, пилюлю, порошкообразное средство, жидкость для перорального приема, гель, спрей и аэрозоль.

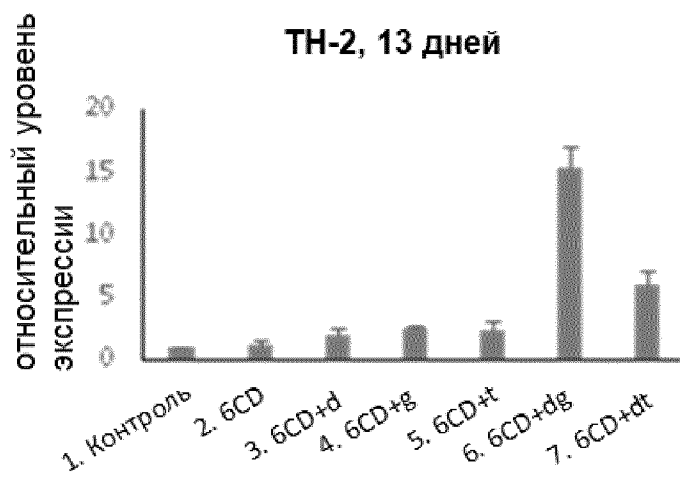
14. Фармацевтический набор для лечения нейродегенеративных заболеваний, содержащий каннабиноидную композицию по любому из пп. 1-7.



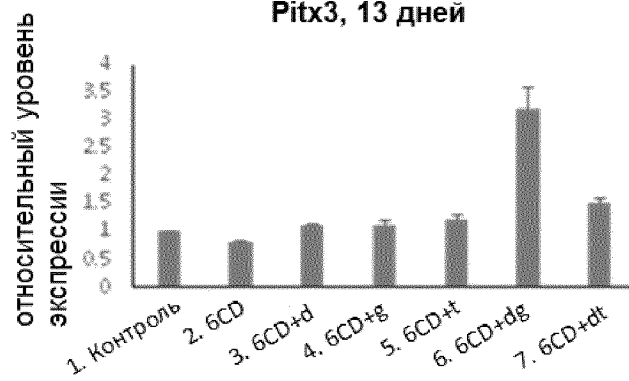
Фиг. 1

Nurr1, 13 дней

А

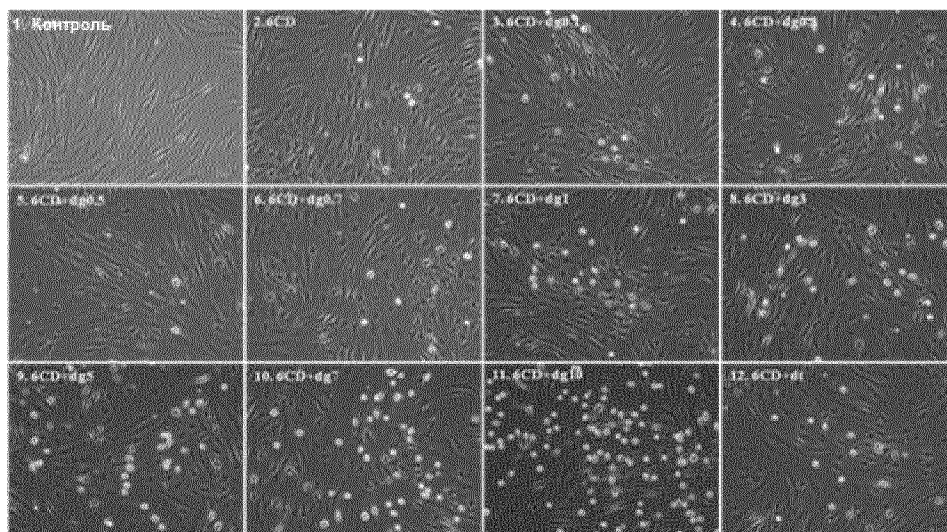
TH-2, 13 дней

В

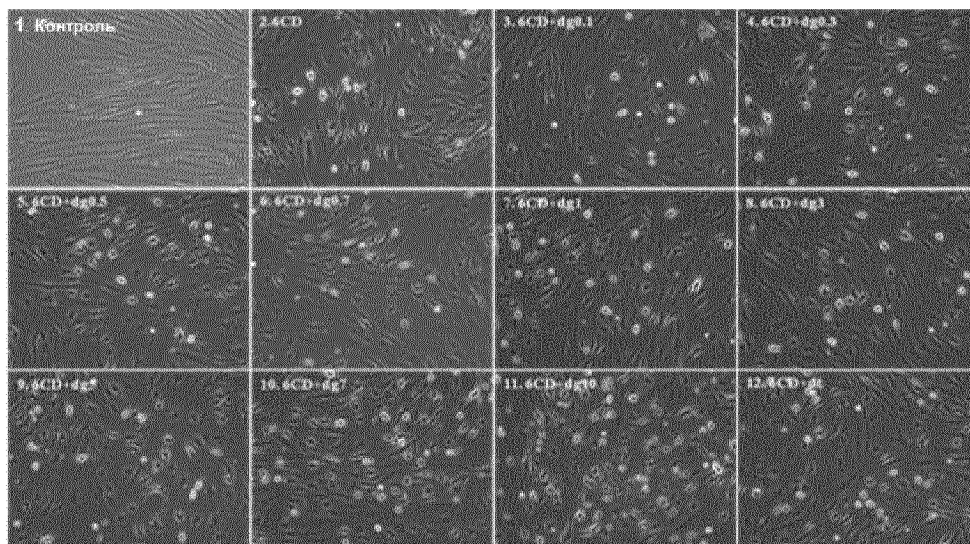
Pitx3, 13 дней

С

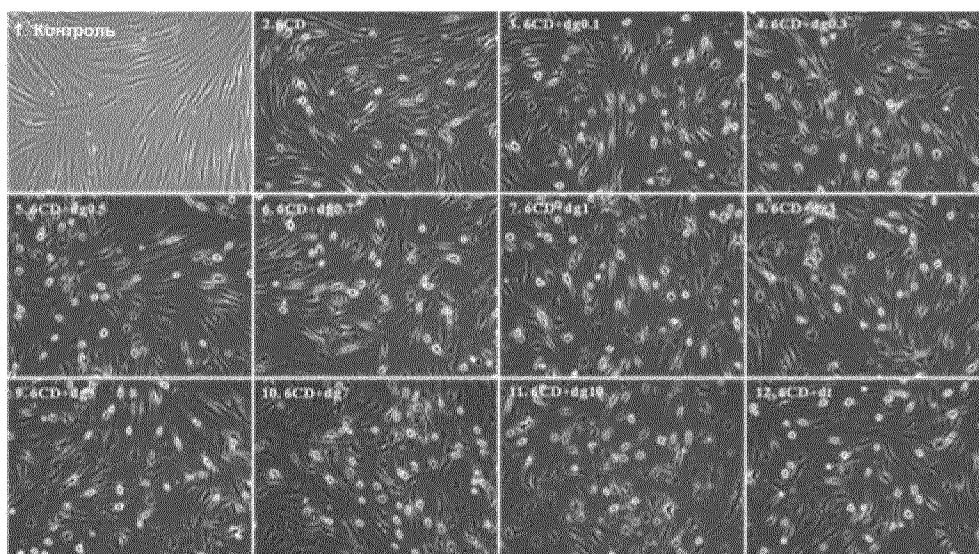
Фиг. 2



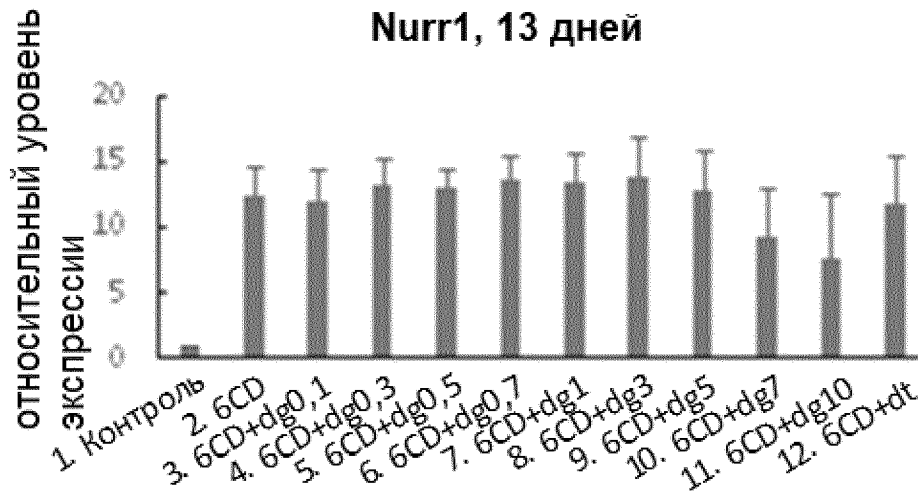
A



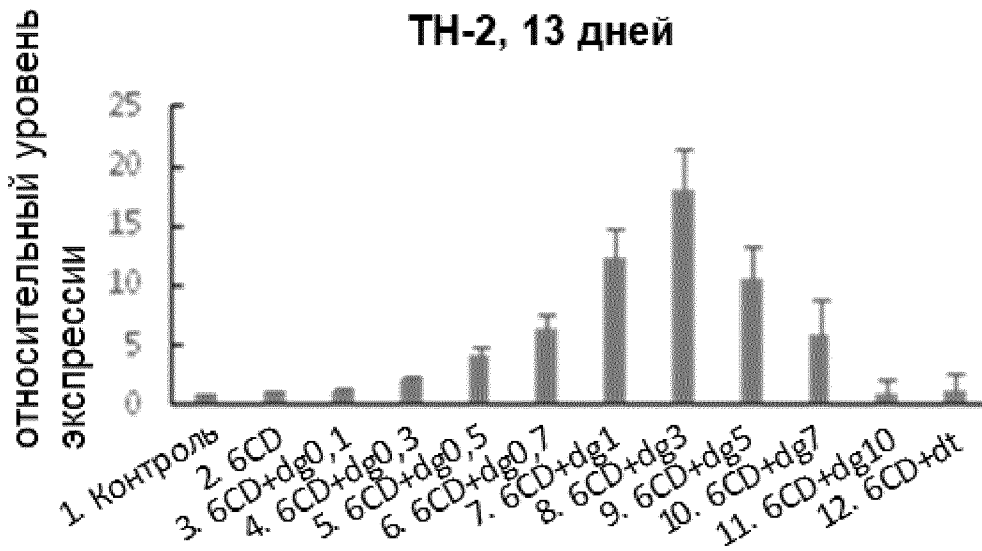
B



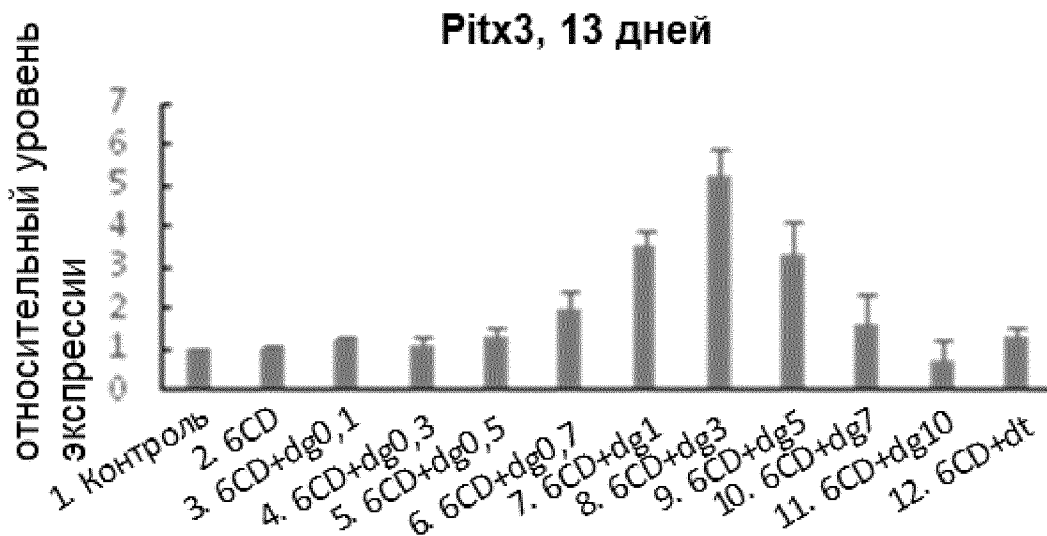
C



А

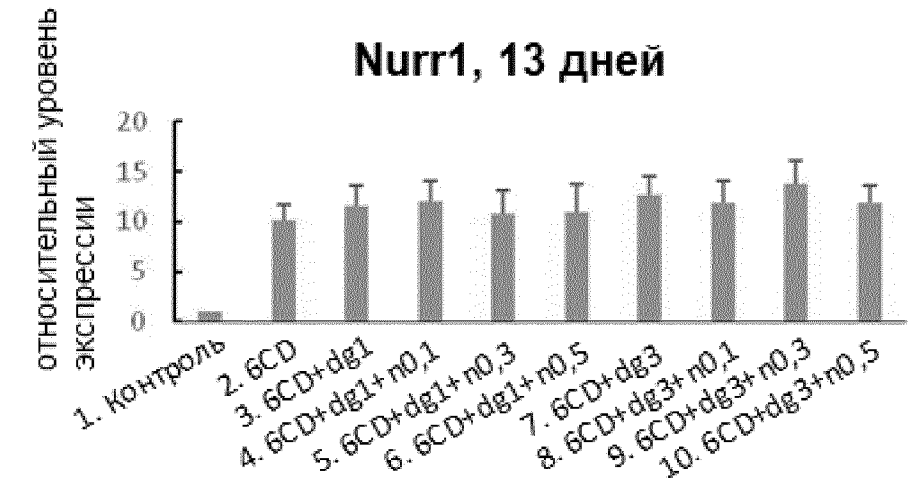


В

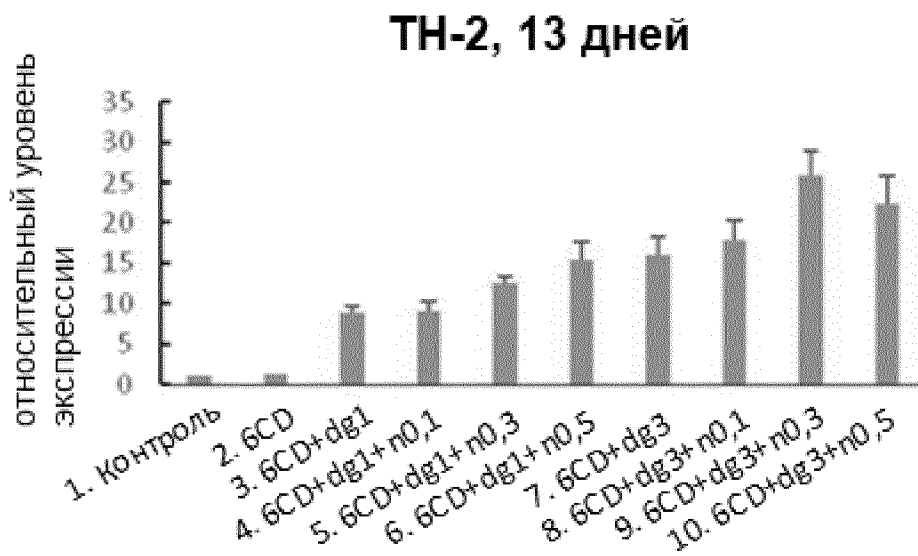


С

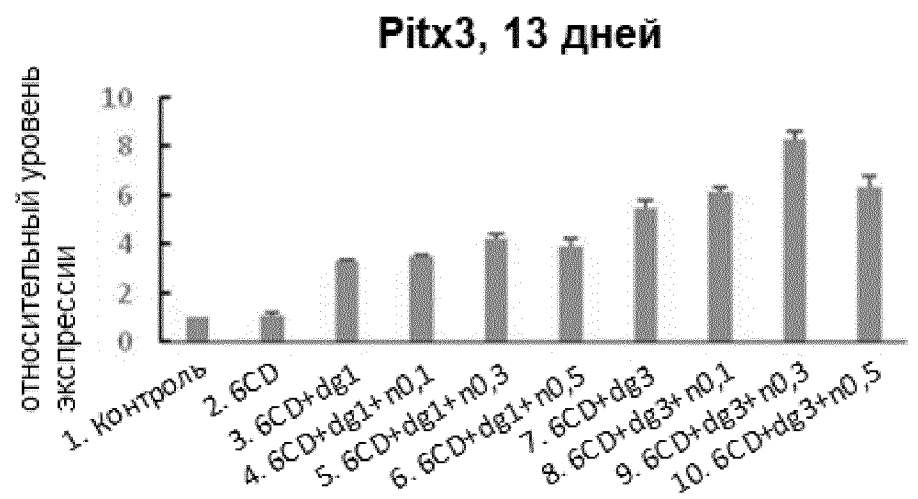
Фиг. 4



А



В



С

Фиг. 5