

Análogos de cannabidiol biológicamente activos

Campo de la invención

La presente invención se dirige al desarrollo de análogos de cannabidiol biológicamente activos capaces de formularse en composiciones farmacéuticas, y a métodos para usar tales composiciones para un beneficio farmacológico. En una realización adicional de la presente invención, los análogos de CBD biológicamente activos poseen propiedades analgésicas solos y en combinación de una dosis subanalgésica de morfina en la neuropatía inducida por cisplatino. Además, estos análogos exhibieron propiedades de bloqueo a la adicción a los opiáceos.

Antecedentes de la invención

El cannabidiol (CBD) tiene una variedad de beneficios farmacológicos, que incluyen, entre otros, antiinflamatorios, analgésicos, anticonvulsivos, antipsicóticos, anti-fibrosis, anti cicatrización, antioxidantes, neuroprotectores, anti-infecciosos, anti-cancerígenos y efectos inmunomoduladores.

El cisplatino es una quimioterapia común utilizada para tratar una variedad de cánceres. Desafortunadamente, el cisplatino tiene un efecto limitante de la dosis en el que 50-85% de los pacientes desarrollan neuropatía periférica 3-6 meses después del tratamiento. La neuropatía inducida por cisplatino (CIN, por sus siglas en inglés) se presenta en una distribución de "guante y calcetín" que causa parestesias

al hormigueo, entumecimiento y alodinia (Paice, 2010; Amptoulach et al., 2011). El tratamiento del dolor para CIN incluye medicamentos anticonvulsivos, antidepresivos y anti-inflamatorios no esteroideos. Estos fármacos demuestran ser bien tolerados en pacientes, pero muestran poca eficacia en el tratamiento de CIN (Wolf et al., 2008; Amptoulach et al., 2011; Miltenburg et al., 2014).

Mientras que los opiáceos pueden proporcionar alivio efectivo del CIN, 76-96% de los pacientes informan efectos adversos que incluyen sedación, náuseas y fatiga que limitan la utilidad y disminuyen la calidad de vida del paciente (Guindon et al., 2008; Toth y Au, 2008). Las preocupaciones adicionales de la terapia con opioides incluyen la tolerancia, la escalada de dosis y la dependencia que pueden conducir a los síntomas de abstinencia con la resolución CIN (Kim et al., 2015). Colectivamente, estas observaciones sugieren la necesidad de desarrollar nuevas farmacoterapias para CIN.

Los cannabinoides (CB) se usan en entornos de oncología para controlar las náuseas, la pérdida de peso, la falta de apetito y el dolor relacionado con la quimioterapia (Alexander et al., 2009). La analgesia con CB en los modelos de dolor crónico y agudo está mediada por los receptores CB1 y CB2 que se expresan diferencialmente en los sistemas nerviosos central y periférico (Chiou et al., 2013; Pisanti et al., 2013). Un cuerpo de literatura emergente apoya la

noción de que los sistemas CB también pueden modular CIN. Por ejemplo, los agonistas directos e indirectos CB1 y CB2 atenúan la alodinia táctil en modelos de CIN en roedores (Vera et al., 2013; Guindon et al., 2012, Khasabova et al., 2012). Sin embargo, al igual que las terapias no opiáceas, los compuestos CB tienen una eficacia moderada y son de utilidad limitada.

CB1 y los receptores opioides se co-localizan en las vías del dolor. La evidencia sugiere que una farmacoterapia dual en estos objetivos puede aumentar los efectos analgésicos mediados por CB (Wilson-Poe et al., 2008, Hall et al., 2005, Mansour et al., 1988, Basbaum et al., 1984). Por ejemplo, THC, el agonista de CB1, muestra efectos sinérgicos con dosis subanalgésicas de la morfina agonista opioide mu en un modelo de dolor artrítico de rata (Cox et al., 2007). Sin embargo, es improbable el uso de cualquier agonista de CB1 en las configuraciones de oncología debido a que estos compuestos aumentan la proliferación y el crecimiento de algunas células tumorales (Hall et al., 2005). Curiosamente, otros constituyentes CB que muestran baja afinidad por los receptores CB también muestran efectos sinérgicos con dosis bajas de opioides. Por ejemplo, cannabidiol (CBD) muestra efectos sinérgicos con dosis subanalgésicas de morfina en un modelo de dolor agudo (es decir, contorsión con ácido acético) pero no contra el dolor térmico (Walker et al., 2015). No se sabe si una farmacoterapia CBD-opioide combinada

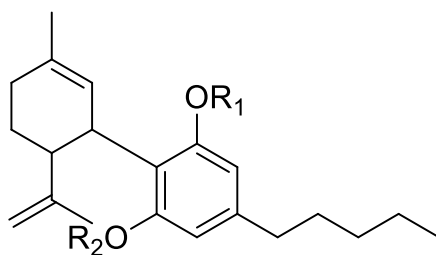
podría proporcionar un alivio del dolor altamente eficaz contra la neuropatía por cisplatino.

Los desafíos en el manejo del dolor en entornos oncológicos conducen a sufrimiento innecesario, disminución de la
5 calidad de vida y, en algunos casos, a una menor esperanza de vida debido a que los pacientes no siguen recibiendo tratamiento de quimioterapia. Las terapias actuales contra CIN son solo modestamente efectivas o completamente efectivas, pero mal toleradas.

10 **Resumen de la invención**

En este documento se describen análogos biológicamente activos de CBD que se pueden administrar mediante una amplia variedad de vías de administración que incluyen, pero no se limitan a, oral, transdérmica o transmucosa (p. ej., bucal,
15 rectal, ocular, nasal) a un mamífero, como un humano, para el tratamiento de una afección médica tal como dolor, inflamación, epilepsia y enfermedades oculares, que incluyen pero no se limitan al tratamiento de enfermedades de la retina (por ejemplo, retinopatía diabética y degeneración
20 macular).

Se ha descubierto que los análogos del CBD biológicamente activos que contienen un aminoácido natural y un resto de ácido dicarboxílico unido a uno de los grupos hidroxilo (con el aminoácido unido al CBD a través de un enlace éster y el
25 ácido dicarboxílico unido al grupo amino del amino ácido en un enlace de amida) con el otro grupo hidroxilo libre, dan



I

Esta fórmula I muestra la estructura para ésteres de aminoácidos y/o análogos de ésteres de ácidos dicarboxílicos en los que R₁ o R₂ o ambos es/son el residuo de un resto
 5 formado por la reacción del grupo amino del éster de aminoácido con un ácido dicarboxílico o un derivado de ácido dicarboxílico y R₁ o R₂ (en el caso del éster de monoaminoácido) es el residuo de un ácido dicarboxílico o
 10 derivado de ácido dicarboxílico o un Hidrógeno (H). Tanto R₁ como R₂ podrían ser residuos de restos formados por reacción del grupo amino del éster de aminoácido en ambos sitios con un ácido dicarboxílico.

Los análogos biológicamente activos de la invención se pueden
 15 formar a partir de aminoácidos que incluyen, por ejemplo, alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina, homoserina lactona
 20 y norleucina. Por un "ácido dicarboxílico" en el presente documento se entiende un ácido orgánico que tiene dos grupos carboxilo (-COOH). La fórmula molecular general para ácidos dicarboxílicos puede escribirse como HO₂C-R-CO₂H, donde R

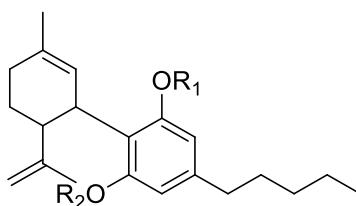
puede ser de cadena lineal o ramificada alifática o aromática. Los ejemplos de ácidos dicarboxílicos adecuados en esta invención incluyen, pero sin limitación, ácido malónico, ácido málico, ácido glutárico, ácido succínico y
5 ácido ftálico. Los ácidos dicarboxílicos se hacen reaccionar como sus anhídridos y derivados reactivos de ácidos dicarboxílicos tales como, por ejemplo, haluros de ácido dicarboxílico.

En una realización adicional de esta invención, se ha
10 encontrado que análogos de CBD biológicamente activos tales como los descritos anteriormente que incluyen, por ejemplo, CBD-val-HS, poseen varios atributos que sugieren que los análogos de CBD biológicamente activos pueden ser útiles en el tratamiento del dolor. En primer lugar, CBD-val-HS tiene
15 una absorción mucho mejor y una vida media biológica más prolongada que CBD. Más importante aún, CBD-val-HS es biológicamente activo y completamente eficaz como ciertos opioides en este modelo de CIN murino. En conjunto, estos hallazgos sostienen firmemente que los análogos del CBD
20 biológicamente activos se deben considerar en el tratamiento del dolor en oncología y, tal vez, en otros entornos clínicos en los que se presenta neuropatía. Además, se encontró que estos análogos biológicamente activos de CBD poseen una actividad más fuerte que CBD en sí misma en el bloqueo de
25 las propiedades de aditivos de morfina.

Esto sugiere que una combinación de estos derivados de CBD con morfina y/u otros opiáceos tendría una mejor actividad analgésica que la morfina y/u otros opiáceos utilizados por sí mismos, al mismo tiempo que previene la adicción a la morfina y/u otros opiáceos causada por su uso prolongado.

Descripción detallada del invento

La presente invención comprende compuestos de la fórmula I

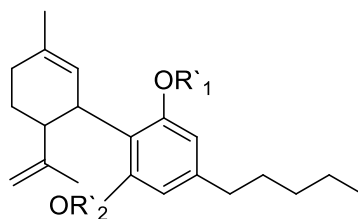


I

en donde uno de R₁ o R₂ o ambos es/son el residuo de un resto formado por la reacción de un grupo amino del éster de aminoácido de R₁ o R₂ o ambos con un ácido dicarboxílico o un derivado de ácido dicarboxílico y el otro R₁ o R₂ (en el caso del mono) es el residuo de un ácido dicarboxílico o derivado de ácido dicarboxílico o Hidrógeno (H), (es decir, no derivatizado), y sus sales.

El aminoácido puede ser, pero no está limitado a los enumerados, alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina.

La presente invención también comprende adicionalmente compuestos biológicamente activos de la fórmula II:

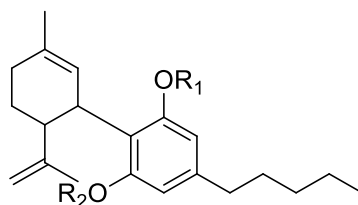


II

donde R'₁ y R'₂ o ambos son residuos de éster de aminoácidos naturales y sus derivados y sales de los mismos.

- 5 El (los) éster (es) de aminoácidos se selecciona(n) entre otros de alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina y
- 10 sus derivados y sales de los mismos.

Los compuestos de la presente invención se pueden describir como compuestos de la fórmula III:



III

- 15 en donde uno de R₁ o R₂ o ambos es/son un residuo de éster de aminoácido de un resto formado por la reacción de un grupo carboxilo de un aminoácido con uno o ambos grupos fenólicos de cannabidiol; o uno de R₁ o R₂ o ambos es/son un residuo éster de un resto formado por la reacción de un grupo
- 20 carboxilo de un ácido dicarboxílico o derivado de ácido dicarboxílico con uno o ambos grupos fenólicos de

cannabidiol; o uno de R_1 o R_2 es el residuo de éster de aminoácido de la reacción del grupo fenólico de cannabidiol con el grupo carboxilo de un aminoácido y el otro R_1 o R_2 es el residuo éster de la reacción del grupo fenólico de cannabidiol con el carboxilo de un ácido dicarboxílico o derivado de ácido dicarboxílico; o uno de R_1 o R_2 (en el caso del mono) es hidrógeno (H), (es decir, no derivatizado) y el otro R_1 o R_2 es un residuo de éster de aminoácido o un residuo de éster, y sales de los mismos.

Uno o ambos R_1 y R_2 es/son un resto éster de aminoácido que se hace reaccionar adicionalmente con un ácido dicarboxílico o derivado de ácido dicarboxílico para formar un resto amida mediante la reacción del grupo amino del éster de aminoácido con un resto carboxílico del dicarboxílico derivado ácido o ácido dicarboxílico.

El aminoácido es cualquiera pero no está limitado a uno de alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina.

En una realización de la presente invención, R_1 o R_2 o ambos son residuos de éster de aminoácidos naturales y sus derivados y sales de los mismos.

Ejemplos ejemplares, pero no exclusivos de la presente invención incluyen: el compuesto es CBD-Di-Glutaminato, CBD-Di-Hemisuccinato, CBD-Di-Alaninato de Ester, CBD-Di-

Alaninato-Di-Hemisuccinato, CBD-Di-Valinato, CBD -Di-Valinato-Di-HS, CBD-Di-Hemiglutarato, CBD-Mono-Valinato, CBD-Mono-Valinato-Mono-Hemisuccinato, o CBD-monovalinato-dihemisuccinato.

- 5 La presente invención abarca además una formulación para la administración de un análogo de CBD biológicamente activo para el tratamiento de una enfermedad que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de fórmula I, II o III en una base o vehículo aceptable.
- 10 Las formulaciones a modo de ejemplo pero no exclusivas según la presente invención son formulaciones tales como: 1) una formulación que es una formulación de supositorio en una base de supositorio aceptable; 2) una formulación que es una formulación oral (por ejemplo, tableta, cápsula o líquido);
- 15 2) una formulación que es una formulación de administración transmucosa; 3) una formulación que es una formulación oftálmica tópica (por ejemplo, un líquido, semisólido o implante) para reducir la presión intraocular y/o la inflamación en el tratamiento del glaucoma y/o la uveítis de
- 20 inflamación ocular en un vehículo oftálmico aceptable; 4) un sistema de administración de depósito externo o interno para el ojo (por ejemplo, una bomba, dispositivo bioerosionable o depósito colocado por vía subcutánea); 5) una formulación tópica para aplicación a la piel (por ejemplo, una loción,
- 25 gel o pomada). Las formulaciones oftálmicas tópicas pueden

ser, por ejemplo, una formulación que es una película ocular polimérica que usa nanopartículas lipídicas.

Una realización adicional de la presente invención es una formulación para la administración de un análogo de CBD biológicamente activo a un sujeto que necesita tratamiento de un estado de enfermedad que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de por fórmula I en una base o vehículo aceptable.

La formulación para la administración de un análogo de CBD biológicamente activo a un sujeto que necesita tratamiento de una enfermedad que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto en el que el compuesto es CBD-Di-Glutaminato, CBD-Di-Hemisuccinato, Éster CBD-Di-Alaninato, CBD-Di-Alaninato-Di-Hemisuccinato, CBD-Di-Valinato, CBD-Di-Valinato-Di-HS, CBD-Di-Hemiglutarato, CBD-Mono-Valinato, CBD-Mono-Valinato-Mono-Hemisuccinato, o CBD-monovalinato-dihemisuccinato en una base o vehículo aceptable.

La formulación puede comprender una formulación de supositorio en una base de supositorio aceptable; una formulación oral; una formulación de administración transmucosa; una formulación oftálmica tópica; o un sistema de administración de depósito externo o interno.

Otra realización más de la presente invención es un método para tratar el tratamiento del dolor que comprende administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento una

cantidad eficaz de al menos un compuesto de acuerdo con la fórmula I. El compuesto utilizado en el presente método es al menos un compuesto en el que el compuesto es CBD-Di-Glutaminato, CBD-Di-Hemisuccinato, éster CBD-Di-Alaninato, CBD-Di-Alaninato-Di-Hemisuccinato, CBD-Di-Valinato, CBD-Di-Valinato-Di-HS, CBD- Di-Hemiglutarato, CBD-Mono-Valinato, CBD-Mono-Valinato-Mono-Hemisuccinato, o CBD-monovalinato-dihemisuccinato en una base o portador aceptable.

El manejo del dolor puede ser, por ejemplo, el manejo del dolor en oncología o el manejo del dolor neuropático.

Adicionalmente, la presente invención se refiere a un método para bloquear propiedades de aditivos opiáceos y comprende administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de al menos un compuesto por fórmula I. Preferiblemente, el compuesto usado en este método es al menos un compuesto en el que el compuesto es CBD-Di-Glutaminato, CBD-Di-Hemisuccinato, Éster CBD-Di-Alaninato, CBD-Di-Alaninato-Di-Hemisuccinato, CBD-Di-Valinato, CBD-Di-Valinato-Di-HS, CBD- Di-Hemiglutarato, CBD-Mono-Valinato, CBD-Mono-Valinato-Mono-Hemisuccinato, o CBD-monovalinato-dihemisuccinato en una base o portador aceptable.

La presente invención también puede abarcar un método para prevenir la adicción a morfina debido al uso prolongado de morfina que comprende administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de al menos un compuesto por fórmula I o preferiblemente el compuesto usado

en este método es al menos un compuesto en el que el compuesto es CBD-Di-Glutaminato, CBD-Di-Hemisuccinato, Éster CBD-Di-Alaninato, CBD-Di-Alaninato-Di-Hemisuccinato, CBD-Di-Valinato, CBD-Di-Valinato-Di-HS , CBD-Di-Hemiglutarato, CBD-Mono-Valinato, CBD-Mono-Valinato-Mono-Hemisuccinato, o CBD-monovalinato-dihemisuccinato en una base o portador aceptable.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra los niveles plasmáticos de CBD frente al tiempo después de la administración rectal de 6.125 mg o 4.625 mg de CBD-Val-HS en un supositorio lipófilo (base W de Wecobe).

La Figura 2 muestra los niveles plasmáticos de CBD después de la administración rectal de 7 mg de CBD-Val-HS en una base hidrófila (PEG 1000).

La Figura 3 muestra los niveles plasmáticos de CBD-Mono-VHS frente al tiempo después de la administración rectal de 7.5 mg de CBD-Mono-VHS en un supositorio lipófilo (base Wecobe W).

La Figura 4 muestra niveles en plasma de CBD-Mono-VHS frente al tiempo después de la administración rectal de 7.5 mg de CBD-Mono-VHS en un supositorio hidrófilo (PEG 1000 base).

La Figura 5 muestra niveles en plasma de CBD-Mono-VHS frente al tiempo después de la administración oral de 4 mg de CBD-Mono-VHS en aceite de semilla de sésamo.

La Figura 6a muestra los niveles de órganos de CBD-Mono-VHS en 2 y 4 horas de administración post oral de 4 mg de CBD-Mono-VHS.

La Figura 6b muestra los niveles en plasma de CBD-Mono-VHS en 2 y 4 horas de administración post oral de 4 mg de CBD-Mono-VHS.

La Figura 7a muestra la concentración de CBD y THC frente al tiempo después de la incubación de CBD a 37 °C a pH 1.2.

La Figura 7b muestra la concentración de CBD frente al tiempo después de la incubación de CBD a 37 °C a pH 7.4.

La Figura 8 muestra la concentración de CBD-Mono-VHS frente al tiempo a pH de 1.2 y 7.4.

La Figura 9 muestra la concentración de CBD-Di-VHS posterior a la incubación a 37 °C frente al tiempo a pH de 1.2 y 7.4.

La Figura 10 muestra los niveles plasmáticos de CBD frente al tiempo después de la administración rectal de 7.5 mg de CBD-HG en un supositorio lipófilo (base Wecobe W).

Las Figuras 11a-d muestran los niveles orgánicos de CBD y CBD-Mono-VHS 70 minutos después de la administración IP de dos dosis (30 y 60 µg) de CBD-Mono-VHS en ratones: a) niveles hepáticos, b) niveles de bazo, c) niveles de riñón, y d) niveles cerebrales.

La Figura 12 muestra la concentración en plasma de CBD-Mono-VHS 70 minutos después de la administración IP de dos dosis (30 y 60 µg) de CBD-Mono-VHS en ratones.

La Figura 13 muestra la retracción media de la pata en gramos de fuerza ($\pm$ SEM). Las líneas punteadas representan las respuestas iniciales del protocolo de administración antes y después del cisplatino antes del cribado de la eficacia del fármaco. Las barras verticales representan respuestas medias en el día de detección de eficacia del fármaco CBD-Val-HS. Las dosis son en mg/kg y administradas vía IP 45 minutos antes de la prueba. * denota atenuación significativa de alodinia táctil en comparación con el grupo de vehículo (p < 0.05). Los tamaños de muestra fueron n = 5-14.

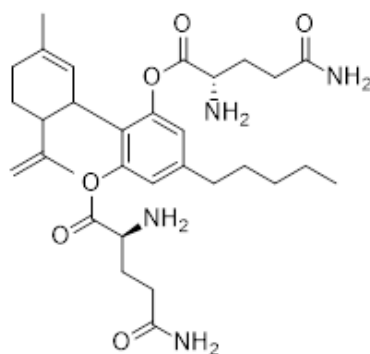
La Figura 14 muestra la retracción media de la pata en gramos de fuerza ($\pm$ SEM). Las líneas punteadas representan las respuestas iniciales del protocolo de administración antes y después del cisplatino antes del cribado de la eficacia del fármaco. Las barras verticales representan respuestas medias en el día de detección de eficacia del fármaco CBD-Val-HS. Las dosis son en mg/kg y administradas vía IP 45 minutos antes de la prueba. * denota atenuación significativa de alodinia táctil en comparación con el grupo de vehículo (p < 0.05). Los tamaños de muestra fueron n = 9-11.

La Figura 15 muestra los efectos de CBD y CBD-val-HS en las puntuaciones de preferencia de lugar de morfina. Los valores representan la diferencia en la proporción media de tiempo (segundos) pasados en la cámara S+ (emparejamiento de fármaco) durante los ensayos previos y posteriores a la condición. Las barras abiertas reflejan animales tratados

con solución salina y las barras con bandas representan animales tratados con morfina. * denota una diferencia significativa del grupo de vehículos. † denota atenuación significativa de la preferencia de morfina. Los tamaños de muestra fueron n = 7-10.

Síntesis de ésteres de CBD-aminoácido:

Ejemplo 1: Síntesis de CBD-Di-Glutaminato



CBD-Di-Glutaminato

Fórmula Química: $C_{31}H_{48}N_4O_8$

Peso Molecular: 570.73

Estructura de CBD-Di-Glutaminato (CBD-Di-Gln).

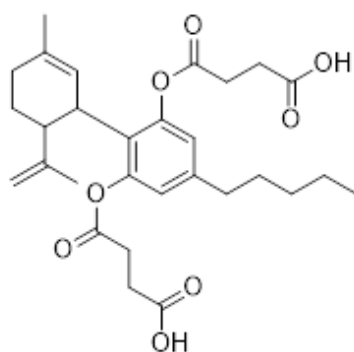
10 A. Síntesis de CBD-diglutaminato-Boc (CBD-di-Gln-boc)

CDB se disolvió en DCM y se le añadió cantidad catalítica de DMAP mientras se agitaba. Se disolvió Boc-glutamina (2.2 eq.) En DCM y 2.2 eq. de DCC se añadió a él mientras se agitaba. La solución de CBD/DMAP se añadió a la solución de Boc-glutamina/DCC y se dejó agitar durante 30 minutos. La cromatografía en capa fina (10% de EtOAc/90% de hexano) indicó la finalización de la reacción. El producto se purificó usando gel de sílice y el producto se eluyó (en 90% de EtOAc/10% de hexano) como compuesto puro.

20 B. Desprotección de CBD-di-Gln-boc a CBD-di-Gln

CBD-di-Gln-boc se disolvió en THF mientras se agitaba. Se burbujeó $\text{HCl}_{(g)}$ a través de él durante aproximadamente 3 minutos mientras se agitaba. El exceso de $\text{HCl}_{(g)}$ se eliminó con $\text{N}_{2(g)}$ y el disolvente se evaporó. El producto fue
5 confirmado por espectrometría de masas.

Ejemplo 2: Síntesis de CBD-Di-Hemisuccinato

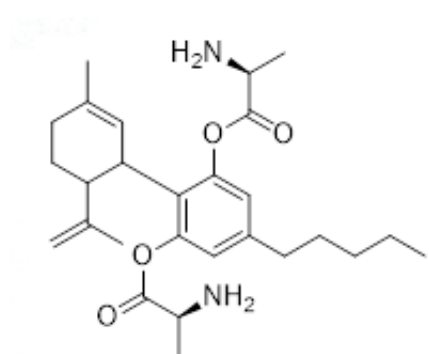


CBD-Di-Hemisuccinato
Fórmula Química: $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_8$
Peso Molecular: 514.62

Estructura de CBD-Di-Hemisuccinato (CBD-Di-HS).

CBD se disolvió en DCM y se le añadió cantidad catalítica de DMAP mientras se agitaba. Se añadieron anhídrido succínico (2.2 eq.) y trietilamina a la solución de CBD/DMAP. La
10 reacción se agitó durante 30 minutos. El producto se purificó usando gel de sílice y se eluyó (en un gradiente que comienza con EtOAc al 0%/Hexano al 100% y aumentando a EtOAc al
15 75%/Hexano al 25%) como compuesto puro. El producto fue confirmado por espectrometría de masas.

Ejemplo 3: Síntesis de Éster de CBD-di-Alaninato



CBD-Di-Alaninato

Fórmula Química: $C_{27}H_{40}N_2O_4$

Peso Molecular: 456.63

Estructura de CBD-Di-Alaninato (CBD-Di-Ala).

A. Síntesis de CBD-di-Ala-boc

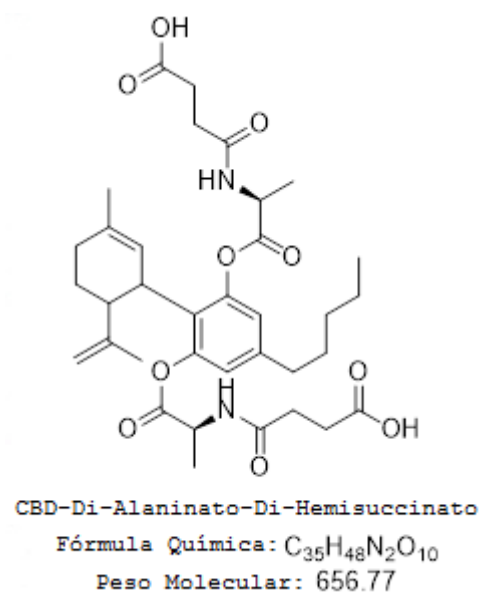
CDB se disolvió en DCM y se le añadió cantidad catalítica de DMAP mientras se agitaba. Se disolvió Boc-alanina (2.2 eq.) en DCM y 2.2 eq. de DCC se añadió a él mientras se agitaba. La solución de CBD/DMAP se añadió a la solución de Boc-alanina/DCC y se dejó agitar durante 30 minutos. La cromatografía en capa fina (10% de EtOAc/90% de hexano; R_f = 0.15) indicó la finalización de la reacción.

El producto se purificó usando gel de sílice y el producto se eluyó (en un gradiente que comienza en 0% de EtOAc/100% de hexano y aumenta a 15% de EtOAc/85% de hexano) como compuesto puro.

15 B. Desprotección de CBD-di-Ala-boc a CBD-di-Ala

CBD-di-Ala-boc se disolvió en THF mientras se agitaba. Se burbujeó $HCl_{(g)}$ a través de él durante aproximadamente 3 minutos mientras se agitaba. El exceso de $HCl_{(g)}$ se eliminó con $N_{2(g)}$ y el solvente se evaporó a sequedad. El producto
20 fue confirmado por espectrometría de masas.

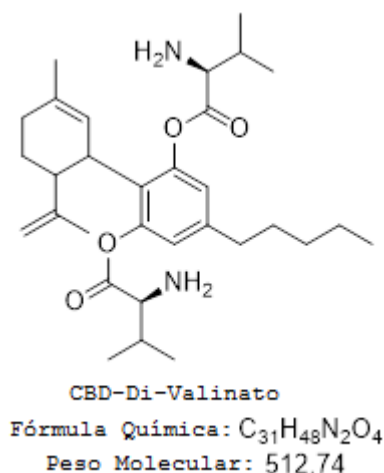
Ejemplo 4: Síntesis de CBD-Di-Alaninato-Di-Hemisuccinato



Estructura de CBD-Di-Alaninato-Di-Hemisuccinato (CBD-Di-Ala-Di-HS).

- 5 CBD-Di-Ala se disolvió en DCM y se le añadió cantidad catalítica de DMAP mientras se agitaba. Se añadieron anhídrido succínico (2.2 eq.) y trietilamina a la solución de CBD-Di-Ala/DMAP. La reacción se agitó durante la noche. El producto se purificó usando gel de sílice y se eluyó (en
- 10 un gradiente que comienza con EtOAc al 30%/Hexano al 70% y aumentando a 100% de EtOAc/Hexano al 0%) como compuesto puro. El producto fue confirmado por espectrometría de masas.

Ejemplo 5: Síntesis de CBD-Di-Valinato



Estructura de CBD-Di-Valinato (CBD-Di-Val).

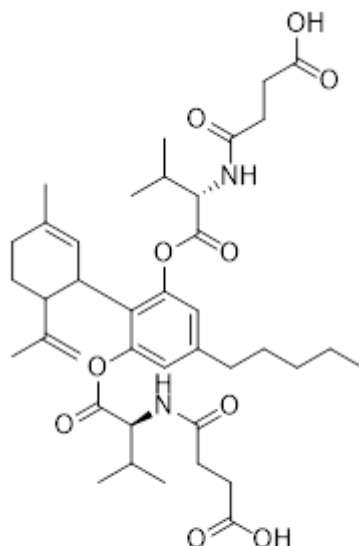
A. Síntesis de CBD-di-Val-boc

CDB se disolvió en DCM y se le añadió cantidad catalítica de DMAP mientras se agitaba. Boc-valina (2.2 eq.) se disolvió en DCM y 2.2 eq. de DCC se añadió a él mientras se agitaba. La solución de CBD/DMAP se añadió a la solución de Boc-valina/DCC y se dejó agitar durante 5 minutos. La cromatografía en capa fina (10% de EtOAc/90% de hexano) indicó la finalización de la reacción. El producto se purificó usando gel de sílice y el producto se eluyó (en un gradiente que comienza en 0% de EtOAc/100% de hexano y aumenta a 5% de EtOAc/95% de hexano) como compuesto puro.

B. Desprotección de CBD-di-Val-boc a CBD-di-Val

CBD-di-Val-boc se disolvió en THF mientras se agitaba. Se burbujeó $HCl_{(g)}$ a través de él durante aproximadamente 3 minutos mientras se agitaba. El exceso de $HCl_{(g)}$ se eliminó con $N_{2(g)}$. El producto fue confirmado por espectrometría de masas.

20 **Ejemplo 6: Síntesis de CBD-Di-Valinato-Di-HS**

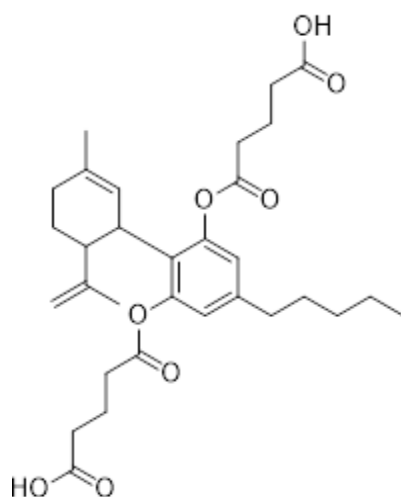


CBD-Di-Valinato-Di-Hemisuccinato
 Fórmula Química: $C_{39}H_{56}N_2O_{10}$
 Peso Molecular: 712.88

Estructura de CBD-Di-Valinato-Di-Hemisuccinato (CBD-Di-Val-Di-HS).

CBD-Di-Val se disolvió en DCM y se le añadió cantidad catalítica de DMAP mientras se agitaba. Se añadieron 5 anhídrido succínico (2.2 eq.) y trietilamina a la solución de CBD-Di-Val/DMAP. La reacción se agitó durante la noche. El producto se purificó usando gel de sílice y se eluyó (en un gradiente que comienza con EtOAc al 0%/Hexano al 100% y 10 aumentando a 80% de EtOAc/20% de Hexano) como compuesto puro. El producto fue confirmado por espectrometría de masas.

Ejemplo 7: Síntesis de CBD-Di-Hemiglutarato

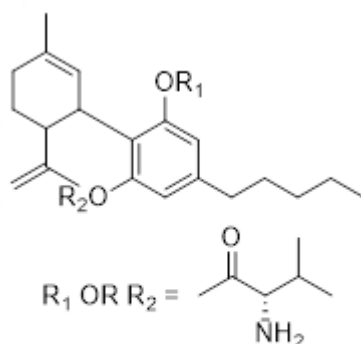


CBD-Di-Hemiglutarato
 Fórmula Química: $C_{31}H_{42}O_8$
 Peso Molecular: 542.67

Estructura de CBD-Di-Hemiglutarato (CBD-Di-HG).

CDB se disolvió en DCM y se le añadió cantidad catalítica de DMAP mientras se agitaba. Se añadieron anhídrido glutárico
 5 (2.2 eq.) y trietilamina a la solución de CBD/DMAP. La reacción se agitó durante 30 minutos. El producto se purificó usando gel de sílice y se eluyó (en un gradiente que comienza en 0% de EtOAc/100% de hexano y que aumenta hasta 40% de EtOAc/60% de hexano) como compuesto puro. El producto fue
 10 confirmado por espectrometría de masas.

Ejemplo 8: Síntesis de CBD-Mono-Valinato



CBD-Mono-Valinato
 Fórmula Química: $C_{26}H_{39}NO_3$
 Peso Molecular: 413.60

Estructura de CBD-Mono-Valinato (CBD-Mono-Val).

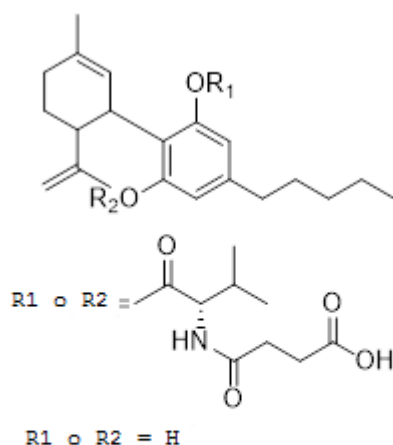
A. Síntesis de CBD-Mono-Val-boc

CDB se disolvió en DCM y se le añadió cantidad catalítica de DMAP mientras se agitaba. Se disolvió Boc-valina (1.1 eq.)
5 En DCM y 1.1 eq. de DCC se añadió a él mientras se agitaba. La solución de CBD/DMAP se añadió a la solución de Boc-valina/DCC y se dejó agitar durante 5 minutos. La cromatografía en capa fina (10% de EtOAc/90% de hexano) indicó la finalización de la reacción. El producto se
10 purificó usando gel de sílice y el producto se eluyó (en un gradiente que comienza en 0% de EtOAc/100% de hexano y aumenta a 3% de EtOAc/97% de hexano) como compuesto puro.

B. Desprotección de CBD-Mono-Val-boc a CBD-Mono-Val

CBD-Mono-Val-boc se disolvió en THF mientras se agitaba. Se
15 burbujeó $\text{HCl}_{(g)}$ a través de él durante aproximadamente 2 minutos mientras se agitaba. El exceso de $\text{HCl}_{(g)}$ se eliminó con $\text{N}_{2(g)}$. El producto fue confirmado por espectrometría de masas.

20 **Ejemplo 9: Síntesis de CBD-Mono-Valinato-Mono-Hemisuccinato**



CBD-Mono-Valinato-Mono-Hemisuccinato

Fórmula Química: $C_{30}H_{43}NO_8$

Peso Molecular: 513.68

Estructura de CBD-Mono-Valinato-Mono-Hemisuccinato (CBD-Mono-Val-Mono-HS).

C. Síntesis de CBD-mono-Val-HS

5 CBD-Mono-Val se disolvió en DCM y se le añadió cantidad catalítica de DMAP mientras se agitaba. Se añadieron anhídrido succínico (1.1 eq.) y trietilamina a una solución de CBD-Mono-Val/DMAP. La reacción se agitó durante la noche. El producto se purificó usando gel de sílice y se eluyó (en

10 un gradiente que comienza en 0% de EtOAc/100% de hexano y que aumenta hasta 30% de EtOAc/70% de hexano) como compuesto puro. El producto fue confirmado por espectrometría de masas.

Ejemplo 10: Síntesis de CBD-monovalinato-dihemisuccinato (CBD-Mono-Val-di-HS).

15 Síntesis de CBD-Mono-Val-boc

CDB se disolvió en DCM y se le añadió cantidad catalítica de DMAP mientras se agitaba. Se disolvió Boc-valina (1.1 eq.) en DCM y 1.1 eq. de DCC se añadió a él mientras se agitaba. La solución de CBD/DMAP se añadió a la solución de Boc-

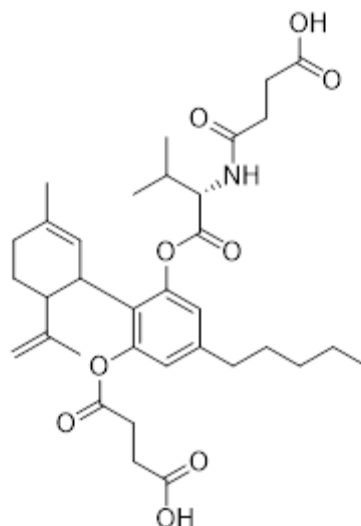
valina/DCC y se dejó agitar durante 5 minutos. La cromatografía en capa fina (10% de EtOAc/90% de hexano) indicó la finalización de la reacción. El producto se purificó usando gel de sílice y el producto se eluyó (en un
5 gradiente que comienza en 0% de EtOAc/100% de hexano y aumenta a 3% de EtOAc/97% de hexano) como compuesto puro.

B. Desprotección de CBD-Mono-Val-boc a CBD-Mono-Val

CBD-Mono-Val-boc se disolvió en THF mientras se agitaba. Se burbujeó $\text{HCl}_{(g)}$ a través de él durante aproximadamente 2
10 minutos mientras se agitaba. El exceso de $\text{HCl}_{(g)}$ se eliminó con $\text{N}_2_{(g)}$. El producto fue confirmado por espectrometría de masas.

C. Síntesis de CBD-mono-Val-diHS

CBD-Mono-Val se disolvió en DCM y se le añadió cantidad
15 catalítica de DMAP mientras se agitaba. Se añadieron anhídrido succínico (2.2 eq.) y trietilamina a la solución de CBD-Mono-Val/DMAP. La reacción se agitó durante la noche. El producto se purificó usando gel de sílice y se eluyó (en un gradiente que comienza en 0% de EtOAc/100% de hexano y
20 que aumenta hasta 30% de EtOAc/70% de hexano) como compuesto puro. El producto fue confirmado por espectrometría de masas.



CBD-mono-Valinato-di-Hemisuccinato

Fórmula Química: $C_{34}H_{47}NO_9$

Peso Molecular: 613.75

Ejemplo 11: Preparación de formulaciones oftálmicas tópicas de análogos de CBD biológicamente activos

Formulaciones: equivalente de CBD al 0.5% p/v en la emulsión
5 Tocrisolve.

Composición de Tocrisolve: Emulsión W/O compuesta de una relación 1:4 de aceite de soja/agua que se emulsiona con el copolímero de bloque Pluronic F68. Proceso de fabricación de la emulsión Tocrisolve:

- 10
 - Agregar una cantidad de fármaco exactamente pesada a un vial de vidrio.
 - Agregar el volumen requerido de emulsión en blanco de Tocrisolve a cada vial
 - Someter a vórtex cada vial durante 5 minutos.
- 15
 - Sonicar cada vial durante 10 minutos.
 - Centrifugar cada vial durante 5 minutos a 9000 rpm a 25 °C.

- Recolectar el sobrenadante y analizar para CBD, CBD-Val Mono y CBD-Val-HS mono según corresponda.

La Tabla 1 muestra la solubilidad de CBD y los análogos de CBD en la emulsión Tocrisolve.

Tabla 1. Solubilidad del CBD y sus análogos en la emulsión Tocrisolve®.						
	CBD	CBD-VAL-MONO (En términos de CBD)	CBD-VAL-HS-MONO (En términos de CBD)	CBD-HS (En términos de CBD)	CBD-VAL-HCl (En términos de CBD)	CBD-VAL-HS (En términos de CBD)
Máxima solubilidad lograda en Tocrisolve (% p/v)	1.19	1.41 (1.07)	1.18 (0.61)	1.12 (0.7)	2.04 (1.09)	1.21 (0.53)

5

Ejemplo 12: Niveles de tejido ocular *in vivo* de CBD y análogos de CBD 90 min. después de la aplicación tópica de 50 µL de formulaciones que contienen el equivalente de 250 µg de CBD en la emulsión Tocrisolve®.

- 10 Se usaron conejos albinos New Zeland machos conscientes. Las formulaciones se aplicaron por vía tópica en los ojos de conejos (50 µL que contienen el equivalente de 250 µg de CBD) en formulaciones de emulsiones de Tocrisolve® como se describe en el Ejemplo 11. Los animales se sacrificaron

durante 90 min. después de la aplicación del fármaco y los tejidos del ojo recolectados para su análisis.

La Tabla 2 muestra los niveles de tejido (ng/g) después de la administración de CBD, CBD-Val-HCl y CBD-Val-HS.

5 Los datos mostraron que, si bien CBD y CBD-Val-HCl soluble en agua solo mostraban niveles muy bajos en la coroides de la retina, CBD-Val-HS llegaba a todos los tejidos en altas concentraciones.

10 **Tabla 2.** Concentraciones tisulares oculares de CBD, CBD-Val y CBD-Val-HS (ng/gm de tejido); 90 min después de la aplicación tópica de CBD (0.47%), CBD-Val-HCl (0.94%) o CBD-Val-HS (1.2%) en emulsión Tocrisolve® (Dosis: 250 µg de CBD; 50 µL de volumen instilado), respectivamente. ND- por debajo
15 del límite de detección.

Tejido	Concentración (ng/gm de tejido); Dosis en términos de CBD equivalente: 0.5% p/v y 50 µL:250 µg					
	0.5% p/v CBD	0.94% p/v CBD- Val-HCl		1.2% p/v CBD-Val-HS		
	CBD	CBD	CBD- Val	CBD	CBD- Val	CBD-Val- HS
Retina	17.3 ±	ND	9.1 ±	ND	ND	417 ± 114
coroidea	6.5		1.5			
Humor acuoso	ND	ND	ND	ND	ND	24.6 ±16.2

Humor vítreo	ND	ND	ND	ND	ND	612 ± 264
-----------------	----	----	----	----	----	-----------

Ejemplo 13: Niveles de tejido ocular *in vivo* de CBD VS otros análogos de CBD.

Se siguió el mismo procedimiento que el mostrado en el
5 Ejemplo 12. Se probaron análogos de CBD adicionales en este ejemplo. En este ejemplo, se determinaron los niveles de tejido tanto del CBD libre como del análogo intacto. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Formulaciones: Cincuenta microlitros de CBD al 0.5% p/v en
10 emulsión Tocrisolve (Dosis: 0.25 mg)

Modelo animal: Conejos albinos neozelandeses machos conscientes, Duración del estudio: 90 min.

Tabla 3. Niveles de tejido ocular de CBD y sus análogos 90 min. después de la administración tópica de los diferentes
15 análogos en la emulsión Tocrisolve®.

	CBD-VAL- HS-MONO 0.97% p/v en la emulsión Tocrisol e Serie 1	CBD-VAL- MONO 0.65% p/v en la emulsión Tocrisolve	CBD 0.53% p/v en la emulsión Tocrisol ve	CBD-HS 0.81% p/v en la emulsión Tocrisolve
--	---	--	---	---

	Conc. del Anál ogo (ng/ g de teji do)	Conc. CBD (ng /g de tej ido)	Conc. del Aná log o (ng /g de tej ido)	Conc. CBD detec tada (ng/g de tejid o)	Conc. CBD (ng/g de tejido)	Conc. del Análogo o (ng/g de tejido)	Conc. CBD (ng/g de tejido)
Humor Ac.	90.3 ± 13.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Humor Vitr.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Retin a coroi dea	689 ± 127	194 ± 31. 2	ND	ND	ND	ND	263 ± 132
Cuerp os cilia res	1034 ± 87.4	353 ± 43	ND	ND	ND	ND	267 ± 46

del							
iris							

Los datos mostraron que, si bien CBD y los análogos de aminoácidos libres no mostraron niveles en los tejidos, CBD-Val-HS alcanzó tanto la coroides de la retina como el cuerpo ciliar del iris, pero no mostró niveles detectables de CBD. Por otro lado, se detectó CBD-mono-Val-HS en alta concentración en el humor acuoso, la retina coroidea y los cuerpos ciliares del iris. Además, CBD-mono-Val-HS mostró altos niveles de CBD libre en la retina coroidea y los cuerpos ciliares del iris.

Ejemplo 14: Comparación de los niveles de CBD y Análogos de CBD en los tejidos oculares después de la administración tópica de los dos análogos biológicamente activos, concretamente CBD-di-Val-HS y CBD-mono-Val-HS.

Este ejemplo es una repetición del experimento realizado en el Ejemplo 13 para mostrar la reproducibilidad de los resultados.

Preparación de la muestra: se analizaron el humor acuoso, el humor vítreo, Retina-Coroides e Iris-Cuerpos Ciliares para el compuesto parental, así como para CBD.

Formulaciones: Cincuenta microlitros de formulaciones de emulsiones Tocrisolve al 0.5% p/v (Dosis: 0.25 mg)

Modelo animal: conejos albinos neozelandeses machos conscientes, Duración del estudio: 90 min

Tabla 4: Concentraciones tisulares oculares de CBD y análogos de CBD 90 min después de la aplicación tópica de CBD-Val-HS-Mono o CBD-VAL-HS en la emulsión Tocrisolve® (Dosis: 250 µg, 50 µL de volumen instilado), respectivamente. AH-humor acuoso, VH-humor vítreo, RC-Retina-coroides, IC-iris Cuerpos ciliares. ND- por debajo del límite de detección.

	0.97% p/v en la emulsión Tocrisolve CBD-VAL-HS-MONO Serie 2		1.2% CBD-VAL-HS Serie 2	
	Concentración análoga (ng/g de tejido)	Concentración de CBD (ng/g de tejido)	Concentración análoga (ng/g de tejido)	Concentración de CBD (ng/g de tejido)
Humor acuoso	98.7 ± 19.8	61.3 ± 5.9	ND	ND
Humor vítreo	ND	ND	ND	ND
Retina Coroides	519 ± 476	503 ± 373	142 ± 76	ND
Cuerpos Ciliares del Iris	422 ± 197	585 ± 103	ND*	ND

Plasma	ND	ND	ND	ND
--------	----	----	----	----

* Solo uno de los animales mostró 160 ng de CBD-Val-HS/g de tejido. El análogo estaba por debajo de los niveles cuantificables en los otros animales.

Los datos en la Tabla 4 muestran resultados similares a los mostrados en el Ejemplo 13 y demuestran que CBD-Mono-Val-HS es un análogo superior para la penetración en los diferentes tejidos del ojo. Cuando los análogos biológicamente activos se diseñan de modo que R₁ **y** R₂ son residuos naturales de aminoácidos (p. ej. CBD-di-Val) o un éster de ácido dicarboxílico (p. ej. CBD-di-HS) o el éster de la amida de aminoácido con un ácido dicarboxílico (por ejemplo, CBD-di-Val-di-HS), la penetración en los tejidos oculares no es adecuada.

Solo cuando el análogo es un éster mono aminoácido con el nitrógeno del aminoácido en un enlace amida con un ácido dicarboxílico, se logró la penetración deseada en las cámaras internas del ojo.

Ejemplo 15: Biodisponibilidad de CBD a partir de formulaciones de supositorios que contienen CBD-di-Val-di-HS (CBD-Val-HS)

CBD-Val-HS se formuló en formulaciones de supositorios lipófilos (base Wecobe W) e hidrófilos (base PEG 1000). Las formulaciones se administraron a ratas canuladas (100 mg de supositorio por rata) y se recogieron muestras de sangre, se centrifugaron y se separó el plasma para análisis de

LC/MS/MS. La cantidad de CBD en las muestras de plasma se cuantificó. La cantidad de CBD-Val-HS en las muestras de plasma no se cuantificó.

La Figura 1 muestra los niveles plasmáticos de CBD frente al tiempo después de la administración de 6.125 mg o 4.625 mg de CBD-Val-HS en un supositorio lipófilo (base W de Wecobe).

La Figura 2 muestra los niveles plasmáticos de CBD después de la administración de 7 mg de CBD-Val-HS en una base hidrófila (PEG 1000).

Se lograron niveles más altos de CBD a partir de una base hidrófila que contenía CBD-Va-HS que cuando el mismo análogo se administraba a través de una base lipófila.

Ejemplo 16: Biodisponibilidad de CBD-Mono-Val-Mono-Hemisuccinato (CBD-Mono-VHS) a partir de una formulación de supositorios lipófilos (Wecobee M).

CBD-Mono-Val-Mono-HS se formuló en base de supositorio Wecobee M (una base lipofílica de triglicéridos) a 75 mg/ml de base fundida. El estudio se llevó a cabo en un modelo de ratas canuladas. A tres animales se les administraron 100 µl cada una de las formulaciones semisólidas para una dosis rectal de 7.5 mg de CBD-Mono-VHS. Esto es seguido por la recolección de muestras de sangre (250 µl) en cada punto de datos (0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6 y 24 horas). La sangre se centrifugó y el plasma se usó para el análisis LC-MS/MS. Los resultados se muestran en la Tabla 5 y la Figura 3.

Tabla 5. Concentración de plasma de CBD-Mono-VHS para animales individuales a lo largo del tiempo Post-administración de 7.5 mg del fármaco en una forma de supositorio Lipofílico (Wecobee M) en ratas

Tiempo (Hrs.)	0	0.25	0.5	1	2	4	6	24
Animal 1	0.0	3.9	12.8	13.8	14.5	27.5	41.6	N/A
Animal 2	0.0	7.1	11.6	18.5	34.6	45.1	53.0	44.3
Animal 3	0.0	7.1	9.0	14.1	12.7	22.0	24.8	7.3
Promedio	0.0	6.0	11.1	15.5	20.6	31.5	39.8	17.2

5

Ejemplo 17: Biodisponibilidad de CBD-Mono-Val-Mono-Hemisuccinato (CBD-Mono-VHS) a partir de una formulación de supositorios hidrófilos (Polietilenglicol 1000, PEG 1000).

CBD-Mono-Val-Mono-HS se formuló en base de supositorio PEG 1000 (una base de supositorio hidrofílico) a 75 mg/ml de base fundida. El estudio se llevó a cabo en un modelo de rata canulada. A tres animales se les administraron 100 µl cada una de las formulaciones semisólidas para una dosis rectal de 7.5 mg de CBD-Mono-VHS. Esto es seguido por la recolección de muestras de sangre (250 µl) en cada punto de datos (0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6 y 24 horas). La sangre se centrifugó y el plasma se usó para el análisis LC-MS/MS. Los resultados se muestran en la Tabla 6 y la Figura 4.

Tabla 6. Concentración de plasma de CBD-Mono-VHS para animales individuales en el tiempo después de la

administración de 7.5 mg del fármaco en una forma de supositorio hidrofílica (PEG 1000) en ratas

Tiempo (Hrs.)	0	0.25	0.5	1	2	4	6	8	24
Animal 1	0.0	10.1	38.4	54.3	123.0	60.5	37.4	21.6	2.5
Animal 2	0.0	14.8	32.9	108.0	113.0	53.5	30.1	27.3	2.6
Animal 3	0.0	14.7	44.2	106.0	108.0	57.5	18.6	44.8	0.0
Promedio	0.0	13.2	38.5	89.4	114.7	57.2	28.7	24.0	0.9

Ejemplo 18. Biodisponibilidad oral de CBD-Mono-Val-Mono- 5 Hemisuccinato (CBD-Mono-VHS)

CBD-Mono-VHS se formuló en una formulación de aceite de semilla de sésamo (Welch, Holme y Clark Co. n.º 39375) compuesta de una solución de 40 mg/ml de la sustancia del fármaco/ml. Los animales (ratas canuladas, n = 4) se
10 dosificaron 100 µl de la solución de aceite por sonda oral. Las muestras de sangre se recogieron a 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 h. después de la dosificación. Las muestras de sangre se centrifugaron y el plasma se analizó para CBD-Mono-VHS. La Tabla 7 y la Figura 5 muestran los resultados,
15 con niveles sanguíneos muy altos que permanecen significativos (> 10 ng/ml) a las 24 horas después de la dosificación.

Tabla 7. Concentración de plasma de CBD-Mono-VHS para animales individuales por Administración pos oral de una
20 dosis de 4 mg/animal del fármaco

Tiempo (Hrs.)	0	0.25	0.5	1	2	4	6	8	24
Animal 1	0.0	1512.3	2655.0	3120.9	1317.3	423.3	181.0	89.8	37.8
Animal 2	0.0	370.2	1437.1	2496.6	399.5	116.1	397.8	210.0	47.1
Animal 3	0.0	978.0	1238.2	1492.0	264.8	284.8	197.8	264.4	17.5
Animal 4	0.0	1255.5	1174.8	1400.6	392.2	115.1	71.4	44.6	6.5
Promedio	0.0	1029.0	1626.3	2127.5	593.5	234.8	212.0	152.2	27.2

Ejemplo 19. Distribución de órganos de CBD-Mono-VHS después de la administración oral

Para determinar si CBD-Mono-VHS alcanza los órganos y
5 especialmente el cerebro, a dos ratas canuladas se les administró la misma dosis que en el Ejemplo 18. Se sacrificó una rata a las 2 h. después de la dosificación y el otro a las 4 h. después de la dosificación y los órganos fueron recolectados (cerebro, hígado y bazo), así como la sangre
10 para el análisis. La Tabla 8a muestra los niveles orgánicos de CBD-Mono-VHS a las 2 y 4 horas. después de la administración oral (4 mg/animal) mientras que la Tabla 8b muestra los niveles plasmáticos.

Los datos se representan en las Figuras 6a y 6b.

15 Los niveles plasmáticos fueron consistentes con los datos del Ejemplo 18 y los órganos mostraron altos niveles del fármaco que indicaban una biodisponibilidad efectiva.

Tabla 8a. Niveles de órganos de CBD-Mono-VHS a las 2 y 4 horas. después de la administración oral con 4 mg/animal.

CBD-Mono-Val-Mono-HS		
Tiempo	Órgano	Conc. (ng/órgano)
2 HR	CEREBRO	556
	HÍGADO	66484
	RIÑÓN	353
	BAZO	1438
4 HR	CEREBRO	205
	HÍGADO	8301
	RIÑÓN	115
	BAZO	392

Tabla 8b. Niveles de plasma a las 2 y 4 h. después de la
5 administración oral con 4 mg /animal de CBD-Mono-VHS.

CBD-Mono-Val-Mono-HS (Plasma)	
Tiempo	Conc. (ng/mL)
2 HR	285
4 HR	53

Ejemplo 20. Estabilidad de CBD-Mono-Val-Mono-Hemisuccinato (CBD-Mono-VHS) en jugo gástrico y jugo intestinal simulado

Se sabe que CBD convierte, al menos parcialmente, al Δ^9 -THC (el componente psicoactivo del cannabis) y a otros cannabinoides en las condiciones ácidas del estómago. (Watanabe, K., Itokawa, Y., Yamaori, S., Funahashi, T., Kimura, T., Kaji, T., Usami, N., Yamamoto, I., 2007; Conversión de cannabidiol en Δ^9 -tetrahidrocannabinol y cannabinoides relacionados en jugo gástrico artificial, y sus efectos farmacológicos en ratones, Forensic Toxicol, 25, 16-21 y Merrick, J., Lane, B., Sebree, T., Yaksh, T., O'Neill, C., Banks, S., 2016; Identificación de Degradantes Psicoactivos de Cannabidiol en Simulación de Fluidos Gástricos y Fisiológicos, Cannabis y Cannabinoides Research, 1.1, 102-112). Esto da como resultado efectos secundarios que son proporcionales al grado de conversión.

La estabilidad del CBD y los análogos del CBD (CBD-Mono-VHS y CBD-Di-VHS) se evaluó en condiciones ácidas y alcalinas para simular la exposición a fluidos gástricos e intestinales. El procedimiento se resume de la siguiente manera:

1. Se preparó una solución stock de 5 mg/ml de CBD, CBD-Mono-Val-Mono HS, CBD-Di-Val-Di HS.
2. Fluido Gástrico Simulado (pH 1.2) + 1% (SDS) se preparó y se mantuvo en un baño de agua a 37 °C.

3. Se preparó tampón fisiológico (pH 7.4) + SDS al 1% y se mantuvo en un baño de agua a 37 °C.
4. Se añadieron 100 µl de CBD, CBD-Mono-Val-Mono HS o CBD-Di-Val-Di-HS en acetonitrilo (equivalente a 500 µg) en viales separados que contenían 5 ml de pH 1.2 y 7.4.
5. En cada punto de tiempo, se retiraron 100 µL de la solución.
6. Se añadieron 900 µl de acetonitrilo a cada muestra.
7. Todas las muestras se centrifugaron a 4 °C y 13,000 rpm.
8. 100 µL del sobrenadante fueron retirados; a esto 100 µL de sobrenadante, se añadieron 900 µL de acetonitrilo y se colocaron en viales LC para su análisis.

Las tablas 9, 10 y 11, y las figuras 7a, 7b, 18 y 19 muestran los resultados.

CBD se convierte en Δ^9 -THC en condiciones ácidas, mientras que los análogos de CBD de esta invención no producen Δ^9 -THC.

Tabla 9. Concentración (ng/ml) de CBD y Δ^9 -THC, en diferentes tiempos de incubación a 37 °C y a pH de 1.2 y 7.4

Ácido (pH 1.2)					Base (pH 7.4)		
	CBD		Δ^9 -THC		CBD		
Punto de Tiempo	Área de Pico	Conc.	Área de Pico	Conc.	Punto de Tiempo	Área de Pico	Conc.
0	1578900	656	70146	38	0	1816000	760

15	1343400	553	433990	238	15	2233800	943
30	546430	204	442900	243	30	2397500	1015
60	335800	111	904900	496	60	263670	1119
90	288960	91	1141200	625	90	2549800	1081
120	186660	46	829150	454	120	2307100	975

Conclusión: CBD se convierte parcialmente en THC bajo las condiciones ácidas del jugo gástrico, pero es estable bajo el pH fisiológico de 7.4.

- 5 **Tabla 10.** Concentración (ng/ml) de CBD-Mono-Val-Mono-HS en diferentes puntos de tiempo después de la incubación a pH de 1.2 y 7.4 a 37 °C

Ácido (pH 1.2)			Base (pH 7.4)		
	CBD-Mono-Val-Mono-HS			CBD-Mono-Val-Mono-HS	
Punto de Tiempo	Área de Pico	Conc.	Punto de Tiempo	Área de Pico	Conc.
0	1515300	941	0	1424000	886
15	2246500	1380	15	2345100	1439
30	2400300	1472	30	1941900	1197
60	2579800	1579	60	2932900	1791
90	2411300	1478	90	2639800	1615
120	2479500	1519	120	2833100	1731

- Conclusión: CBD-Mono-VHS es estable tanto en condiciones ácidas (jugo gástrico) como intestinal (pH 7.4).

Tabla 11. Concentración (ng/ml) de CBD-Di-Val-Di-HS en diferentes momentos después de la incubación a pH de 1.2 y 7.4 a 37 °C

Ácido (pH 1.2)			Base (pH 7.4)		
	CBD-Di-Val-Di-HS			CBD-Di-Val-Di-HS	
Punto de Tiempo	Área de Pico	Conc.	Punto de Tiempo	Área de Pico	Conc.
0	454560	754	0	488890	794
15	1346800	1797	15	549120	865
30	1091200	1498	30	776690	1131
60	1418400	1881	60	1004900	1397
90	1403700	1863	90	994740	1386
120	1420400	1883	120	855710	1223

5 Conclusión: CBD-DiVal-DiHS es estable en condiciones ácidas de zumo y en las condiciones fisiológicas (pH 7.4) del jugo intestinal.

Ejemplo 21. Biodisponibilidad de CBD a partir de formulaciones de supositorios que contienen CBD-Hemiglutarato (CBD-HG)

CBD-Hemiglutarato se formuló en una base de supositorios lipófilos (Wecobee M) a 75 mg/ml de base fundida. Dosis de 100 µl de la formulación se administraron por vía rectal (equivalente a 7.5 mg dosis/animal) a ratas canuladas (n = 4). Se recogieron muestras de sangre (0.25 ml) a 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 hora después de la dosificación.

Después de la centrifugación de la sangre, se recogió el plasma (100 µl) y se sometió a análisis LC-MS/MS para CBD. La cantidad de CBD-HG en el plasma no se determinó. La Tabla 12 y la Figura 10 muestran los resultados.

- 5 **Tabla 12.** Concentración de plasma de CBD después de la administración rectal de CBD-Hemiglutarato (dosis de 7.5 mg) en una formulación de supositorio lipófilo

Tiempo (Hrs.)	0	0.25	0.5	1	2	4	6	8	24
Animal 1	0	27.8	29	5.92	18.8	15.8	0	0	0
Animal 2	0	0	42.3	8.65	0	7.45	0	0	0
Animal 3	0	0	44.3	17	16.8	6.63	0	0	0
Animal 4	0	14.5	6.16	11.5	26.2	7.43	0	0	0
Promedio	0	10.575	30.44	10.7675	15.45	9.3275	0	0	0

- Ejemplo 22. Concentraciones en plasma y órganos de CBD y**
 10 **CBD-Mono-VHS después de la administración de IP de CBD-Mono-VHS en ratones**

- Se administró CBD-Mono-VHS por vía intraperitoneal a ratones a 2 dosis (30 µg y 60 µg equivalentes de CBD/ratón). Setenta minutos después de dosificar los animales (3 ratones en cada
 15 grupo de dosis), se sacrificaron todos los animales. La sangre, así como los órganos (hígado, bazo, riñón y cerebro), se recogieron para el análisis de LC-MS/MS de su contenido de CBD y CBD-Mono-VHS.

La Tabla 13 muestra el contenido total de CBD-Mono-VHS de cada órgano para cada animal para ambas dosis con desviación media y estándar, mientras que la Tabla 14 muestra el contenido total de CBD. También se muestra la concentración de CBD-Mono-VHS en el plasma 70 minutos después de la dosificación.

Los resultados también se representan en las Figuras 11a (hígado), Figura 11b (bazo), Figura 11c (riñón), Figura 11d (cerebro) y Figura 12 (concentración en plasma (ng/ml)) para animales individuales de cada dosis.

Conclusión: La administración de IP de CBD-Mono-VHS en ratones da como resultado altas concentraciones del fármaco en todos los órganos analizados de una manera proporcional a la dosis. Más importante aún, el compuesto cruza la barrera hematoencefálica, un hallazgo significativo en el uso de este compuesto para el tratamiento de afecciones de enfermedades basadas en el SNC.

Tabla 13. Carga total de fármaco (en ng) de CBD-Mono-Val-Mono-HS en los diferentes órganos y las concentraciones plasmáticas (ng/ml) 70 minutos posteriores a la administración IP de dos niveles de dosis (30 y 60 µg/animal) del fármaco

CBD-Mono-Val-Mono-HS Total (ng) *							
Dosis	Anima l #	Hígado	Riñón	Bazo	Cerebr o	Plasma	Total

Dosis baja (30 µg de CBD/ ratón)	1	1543.9 6	132.55	150.3 6	5.81	22.97	1855.6 56
	2	1431.9 8	88.05	105.2 4	13.48	32.08	1670.8 31
	3	534.11	84.14	283.0 2	8.26	32.24	941.76 5
	PROM.	1170.0 1	101.58	179.5 4	9.18	29.10	1489.4 2
	SD	553.55	26.89	92.41	3.92	5.31	483.20
Dosis alta (60 µg de CBD/ ratón)	4	8380.9 0	780.57	711.3 1	46.59	137.82	10057. 18
	5	2882.4 0	248.34	477.4 0	42.45	100.53	3751.1 13
	6	11413. 38	2552.9 3	1126. 58	101.50	393.00	15587. 4
	PROM.	7558.8 9	1193.9 5	771.7 6	63.51	210.45	9798.5 6
	SD	4324.4 89	1206.6 27	328.7 87	32.963 02	159.18 86	5922.3 79

* Los niveles de órgano son contenido total de CBD-Mono-VHS en todo el órgano, mientras que el contenido de plasma está en ng/ml.

Tabla 14. Carga total de fármaco (en ng) de CBD en los 5 diferentes órganos y las concentraciones plasmáticas (ng/ml) 70 minutos después de la administración IP de dos niveles de dosis (30 y 60 µg/animal) del fármaco

CBD Total (ng)							
Dosis	Anima l #	Hígado	Riñón	Bazo	Cere bro	Plasm a	Total
Dosis baja (30 µg de CBD/ ratón)	1	81.42	0.00	0.00	0.00	0.00	81.42
	2	41.82	7.03	10.04	0.00	0.00	58.89
	3	19.61	0.00	18.35	0.00	0.00	37.96
	PROM.	47.62	2.343	9.46	0.00	0.00	59.42
	SD	25.56	3.31	7.50	0.00	0.00	21.73
Dosis alta (60 µg de CBD/ ratón)	4	319.91	18.50	93.63	0.00	0.00	432.0 4
	5	195.66	14.96	99.63	0.00	0.00	310.2 5
	6	369.75	0.00	0.00	2.86	0.00	372.6 1
	PROM.	295.11	11.15	64.42	0.95	0.00	371.6 3
	SD	73.20	8.02	45.62	1.35	0.00	60.90

En una realización adicional de la presente invención, los inventores exploraron si el cannabidiol (CBD) o los análogos de CBD biológicamente activos poseían propiedades analgésicas solos y en combinación de una dosis subanalgésica de morfina o en un modelo de ratón de neuropatía inducida por cisplatino. Los ratones recibieron 12 días alternos de

2.3 mg/kg de cisplatino y solución IP de Ringers. Un Von Frey electrónico cuantificó el desarrollo de alodinia táctil antes, durante y después del protocolo de cisplatino y sirvió como punto final para el cribado analgésico. Los artículos de prueba administrados solos o en combinación incluyeron 5 vehículo, morfina (0.5 y 2.5 mg/kg) y CBD (1.0 y 2.0 mg/kg en el Experimento 1) o un análogo de CBD (1.0-4.0 mg/kg en el Experimento 2) y fueron dado vía IP 45 min antes de la prueba. Seis dosis de cisplatino produjeron una alodinia 10 táctil robusta que se atenuó con 2.5 mg/kg de morfina. CBD produjo una atenuación moderada de la alodinia táctil que se potenciaba con dosis subanalgésicas de morfina. El análogo de CBD biológicamente activo produjo una atenuación robusta de alodinia táctil equivalente a la morfina; este efecto se 15 reprodujo en dosis más bajas cuando se administró en combinación con dosis subanalgésicas de morfina. Estos hallazgos sugieren que un análogo de CBD biológicamente activo puede ser una estrategia efectiva de tratamiento del dolor para la neuropatía asociada con la quimioterapia en 20 entornos de oncología.

Ejemplo 23: Eficacia de CBD en un modelo de alodinia táctil inducida por cisplatino

Sujetos

Ratones machos C57BL/6 (25-30 g, Envigo, Indianápolis, IN) 25 se alojaron en 5 por cada bañera de policarbonato con lecho blando en un vivero controlado por temperatura y humedad.

Los ratones se mantuvieron bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas con las luces encendidas a las 06:00. Comida y agua estaban disponibles a voluntad. Los animales se aclimataron al vivero 1 semana antes de las manipulaciones experimentales. Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de Mississippi (Protocolos 13-017 y 15-022).

Medidas conductuales

Una versión electrónica de von Frey (eVF, Topcat Metrology Ltd., Little Downham, Reino Unido) cuantificó el desarrollo de alodinia táctil durante la inducción de CIN y sirvió como punto final en la detección de analgésicos. Los animales se colocaron en un recinto de plexiglás transparente elevado (3.81 x 11.43 x 11.43 cm) con un suelo de varilla de metal. Después de un período de aclimatación de 15 minutos, se aplicó un filamento de von Frey a la región medio plantar de la pata trasera y se registraron los umbrales de retracción. Se aplicaron filamentos para alternar las patas traseras izquierda y derecha a intervalos de 3 min para un total de 4 medidas por pata. El puntaje promedio de estas 8 pruebas sirvió como medida dependiente.

Artículos de prueba

Se disolvió cisplatino (Tocris; Ellisville, MO) en solución salina al 0.9% para producir dosificaciones de 2.3 mg/kg/ml. La solución de lactato de Ringer (0.25 ml, Abbott

laboratories, Chicago, IL) se utilizó para hidratar ratones para evitar el daño renal y hepático asociado con la administración repetida de cisplatino. El sulfato de morfina (Research Biochemicals International, Natick, MA) se
5 disolvió en solución salina al 0.9% para producir dosificaciones de 0.1 y 2.5 mg/kg/ml. CBD 1.0 y 2.0 mg/kg/mL (ELI Laboratories, Oxford, MS) soluciones, disueltas en 5% de etanol, 5% de Cremophor y agua inyectable. Todos los artículos de prueba se administraron por vía intraperitoneal
10 (IP).

Procedimiento de Detección de Inducción de cisplatino y eficacia del fármaco

Los ratones recibieron 6 inyecciones IP de cisplatino (2.3 mg/kg/ml) en días alternos con solución de Ringer lactato en
15 días intermedios durante un período de 12 días. Las mediciones basales de eVF se tomaron antes de la inscripción en el estudio para garantizar asignaciones de grupo equilibradas. Para controlar la progresión de la alodinia táctil, se tomaron mediciones de eVF adicionales en los días
20 3 y 6 de Ringers antes de las inyecciones diarias. En el día 6 de Ringers, las mediciones de eVF revelaron umbrales de retirada de la pata significativamente más bajos indicativos de neuropatía. La detección de la eficacia del fármaco se realizó 2 días después para minimizar el efecto potencial
25 que las pruebas eVF repetidas pueden tener en nuestro punto final CIN. Los ratones fueron contrapesados y asignados a

grupos del fármaco. Todos los compuestos de prueba se administraron IP 45 minutos antes de la prueba de eVF.

Resultados y discusión

Los efectos de los diversos artículos de prueba sobre alodinia táctil inducida por cisplatino se resumen en la
5 Figura 13. Las respuestas de eVF basales antes y después de la administración de cisplatino se muestran como líneas discontinuas. Siguiendo el protocolo de inducción con cisplatino, todos los ratones mostraron umbrales de
10 respuesta más bajos indicativos de alodinia táctil. Un ANOVA de 1 vía de estos datos reveló una disminución significativa en la extracción de la pata después del protocolo de cisplatino, $F(1,71) = 136.03$, $p < 0.0001$.

El día del examen de eficacia del fármaco, los ratones
15 tratados con vehículo continuaron mostrando alodinia táctil. Una dosis subanalgésica de morfina (0.1 mg/kg) no afectó las respuestas de eVF, mientras que la morfina de 2.5 mg/kg atenuó completamente la alodinia táctil. CBD produjo una atenuación moderada de CIN a 1.0, pero no a las dosis de 2.0
20 mg/kg. La dosis subanalgésica de morfina administrada en combinación con 2.0 mg/kg de CBD atenuó la alodinia táctil comparable a 2.5 mg/kg de morfina. Este efecto sinérgico de opioide-CBD no se mejoró con 2.5 mg/kg de morfina.

Un ANOVA de 1 vía de estos datos reveló un efecto principal
25 significativo para el Fármaco, $F(7,71) = 15.72$, $p < 0.0001$. El LSD de Fisher demostró que los umbrales medios de retirada

fueron significativamente más altos que el vehículo en 2.5 mg/kg de morfina, 1.0 mg/kg de CBD, 0.1 mg/kg de morfina en combinación con 1.0 y 2.0 mg/kg de CBD y 2.5 mg/kg de morfina en combinación con 2.0 mg/kg de grupos CBD ($p \leq 0.0001$).

5 Estos resultados demuestran que un protocolo de 6 dosis de 2.3 mg/kg de cisplatino durante un período de 12 días conduce a una robusta alodinia táctil en ratones, un signo distintivo de la neuropatía inducida por la quimioterapia. Además, la alodinia táctil persistió durante varios días después de la
10 última administración de cisplatino, como se evidencia por los umbrales continuos de retracción reducida de la pata en ratones tratados con vehículo en el día de selección de la eficacia del fármaco. Estos hallazgos son consistentes con la literatura que este y otros protocolos de administración
15 de cisplatino producen CIN en roedores (Park et al., 2012; Guidon et al., 2012).

Los ratones que recibieron 2.5 mg/kg de morfina mostraron una fuerte atenuación de la alodinia táctil. Este hallazgo es consistente con la literatura que los agonistas opiáceos
20 producen analgesia en una amplia variedad de modelos de dolor que incluyen CIN (Guidon et al., 2012). Los ratones que recibieron 1.0 mg/kg de CBD mostraron una atenuación modesta pero significativa de alodinia táctil. Una dosis más alta de CBD no fue efectiva en el modelo. Una dosis subanalgésica de
25 morfina (0.1 mg/kg) no modificó más las propiedades antialodínicas de 1.0 mg/kg de CBD administrado solo. Sin

embargo, esta dosis subanalgésica de morfina mejoró en gran medida la eficacia de 2.0 mg/kg de CBD produciendo un efecto equivalente al de la dosis de 2.5 mg/kg de morfina sola. Finalmente, la dosis efectiva de morfina de 2.5 mg/kg no
5 potenció aún más la CBD de 2.0 mg/kg. Colectivamente, estos hallazgos demuestran que la modesta eficacia del CBD se puede mejorar en gran medida con dosis subanalgésicas de un agonista opioide.

Ejemplo 24: Eficacia de CBD-Mono-VHS en un modelo de alodinia

10 táctil inducida por cisplatino:

Métodos

El comportamiento de los sujetos, el protocolo de inyección de cisplatino y las medidas de comportamiento fueron como se describe en el Ejemplo 23. Como antes, el sulfato de morfina
15 se disolvió en solución salina al 0.9% para producir dosificaciones de 0.1 y 2.5 mg/kg/ml. Cannabidiol-mono-val-mono-hemisuccinato (CBD-Mono-VHS; ELI Laboratories, Oxford, MS) 1.0 a 4.0 mg/kg/ml se disolvió en etanol al 5%, Cremophor al 5% y agua inyectable y son dosis-equivalentes en términos
20 del equivalente CBD. Las dosis completas de CBD-Mono-VHS fueron de 1.6 a 6.4 mg/kg. Todos los artículos de prueba se administraron por vía intraperitoneal (IP). Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad
25 de Mississippi (Protocolo 15-022).

Resultados y Discusión

El tamizaje de eficacia de estos artículos de prueba sobre alodinia táctil inducida por cisplatino se resume en la Figura 14. Las respuestas de eVF basales antes y después de la administración de cisplatino se muestran como líneas discontinuas. Siguiendo el protocolo de inducción con cisplatino, todos los ratones mostraron umbrales de respuesta más bajos indicativos de alodinia táctil. Un ANOVA de 1 vía de estos datos reveló una disminución significativa en la retracción de la pata después del protocolo de cisplatino, $F(1,99) = 601.36$, $p < 0.0001$.

El día del examen de eficacia del fármaco, los ratones tratados con vehículo continuaron mostrando alodinia táctil. Una dosis subanalgésica de morfina (0.1 mg/kg) no afectó las respuestas de eVF, mientras que la morfina de 2.5 mg/kg atenuó completamente la alodinia táctil. CBD-Mono-VHS administrado solo produjo una atenuación dosis-dependiente de alodinia táctil que equivale a 2.5 mg/kg de morfina a 3.0 y 4.0 mg/kg. La combinación de una dosis subanalgésica de morfina y CBD-Mono-VHS cambió esta curva de respuesta a la dosis a la izquierda, donde 2.0 mg/kg de CBD-Mono-VHS atenuó la alodinia táctil igual a la de 2.5 mg/kg de morfina.

De acuerdo con estos hallazgos, un ANOVA de 1 vía de estos datos reveló un efecto significativo para el Fármaco, $F(10,99) = 9.76$, $p < 0.0001$. El LSD de Fisher demostró que los umbrales de abstinencia medios fueron significativamente más altos en comparación con el vehículo en 2.0-4.0 mg/kg de

grupos CBD-Mono-VHS y la combinación de fármacos de 0.1 mg/kg de morfina y 1.0 - 4.0 mg/kg CBD-Mono-VHS ($p \leq 0.0001$).

Estos resultados son consistentes con los del ejemplo 23 y muestran que este protocolo de administración de cisplatino produce alodinia táctil robusta en ratones, un signo distintivo de neuropatía inducida por quimioterapia. Esta alodinia táctil persistió durante varios días, como lo demuestran los umbrales continuos de reducción de retracción de la pata en ratones tratados con vehículo en el día de detección de la eficacia del fármaco.

Como en el Ejemplo 23, los ratones que recibieron 2.5 mg/kg de morfina exhibieron una atenuación robusta de alodinia táctil. CBD-Mono-VHS produjo una fuerte atenuación dependiente de la dosis de alodinia táctil equivalente a 2.5 mg/kg de morfina a dosis de 3.0 y 4.0 mg/kg. Además, esta función de respuesta a la dosis de CBD-Mono-VHS se desplazó hacia la izquierda mediante la adición de una dosis subanalgésica de morfina. Esta combinación de fármacos logró un efecto máximo en la dosis de 2.0 mg/kg de CBD-Mono-VHS que fue tan eficaz como 2.5 mg/kg de morfina sola. Colectivamente, estos hallazgos demuestran que 1) CBD-Mono-VHS solo produce analgesia robusta igual a los opioides contra CIN y 2) estos efectos CBD-Mono-VHS se pueden lograr en dosis más bajas cuando se combinan con dosis subanalgésicas de un agonista opioide.

Ejemplo 25: Efectos disuasivos de abuso de CBD y CBD-val-HS en un modelo de adicción

Método

Sujetos

5 Ratones machos C57BL/6 (25-30 g) fueron alojados en grupo (n = 5) en una bañera de polycarbonato con ropa de cama suave en un terrario de temperatura y humedad controladas. Los ratones se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 horas con las luces encendidas a las 06:00. Comida y agua
10 estaban disponibles a voluntad. Los ratones se aclimataron a la sala de colonias de vivarium una semana antes de las pruebas de comportamiento. Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados el 18 de mayo de 2015 por el Comité Institucional de Cuidado de Animales de la Universidad
15 de Mississippi (Protocolo # 15-022).

Aparato

Se utilizaron cinco cámaras de preferencia de lugar (Modelo MED-CPP-3013; Med Associates, St. Albans, VT) para estos experimentos. Cada cámara tiene dos cámaras de
20 acondicionamiento distintas del estímulo (Paredes de color negro contra blanco y piso de varillas metálicas de alambre o malla; 16.75X12.70 cm) separadas por una tercera cámara de inicio central (7.25X12.70 cm; color gris con un piso sólido liso). Las puertas de guillotina permitieron el
25 confinamiento/acceso a cámaras individuales.

Procedimiento

Los grupos en este estudio formaron un diseño factorial 2x6 que combinó 2 niveles de morfina y 6 niveles de CBD y CBD-val-HS. El sulfato de morfina (Research Biomedical International, Natick, MA) se disolvió en solución salina al 0.9% para producir una dosificación de 2.5 mg/ml. Se disolvieron soluciones de cannabidiol (> 98% de pureza) de 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 mg/kg/mL y una dosis única de CBD-val-HS 10.0 mg/kg/mL (ELI Laboratories, Oxford, MS) en 5% etanol, 5% Cremophor y agua inyectable. Los ratones recibieron administraciones IP dual de compuestos de prueba.

Antes de las pruebas de comportamiento, los animales pueden aclimatarse a la sala de pruebas durante al menos 30 minutos. El procedimiento de CPP consta de cuatro fases: 1) una prueba de habituación de 15 minutos, 2) una de 15 minutos para establecer las puntuaciones de CPP iniciales, 3) seis ensayos de 45 min de acondicionamiento farmacológico y 4) una prueba de 15 min para establecer puntuación de CPP después del acondicionamiento. Durante la habituación libre de fármacos, la línea de base y los ensayos de preferencia final, los animales se colocaron en la cámara de inicio gris durante un período de adaptación de 5 minutos. Después del período de adaptación, las puertas de guillotina se levantaron permitiendo el acceso a todo el aparato. El aparato de prueba se limpió a fondo con una solución de etanol al 70% después de cada prueba.

Los puntajes de CPP se determinaron mediante $\frac{\text{Tiempo en Negro}}{\text{Tiempo en Negro} + \text{Blanco}}$

y condujeron al establecimiento de la cámara S+ para el acondicionamiento de fármacos mediante el cual S+ se asignó al compartimento no preferido. A partir de estos puntajes de CPP, los puntajes de línea de base y post-acondicionamiento se calcularon como $\frac{\text{Tiempo en S+}}{\text{Tiempo en S+} + \text{S-}}$. Los puntajes de preferencia se calcularon tomando la resta del post condicionamiento y los puntajes CPP basales con valores positivos que reflejan recompensa y valores negativos que reflejan aversión.

10 *Análisis estadístico*

Los datos se analizaron utilizando el software SPSS utilizando ANOVA bidireccional (entre grupos) y ANOVA unidireccional (entre grupos) para análisis de efectos simples seguidos de comparaciones planificadas (LSD de Fisher) para diferencias de grupos con significación en $p < 0.05$.

Resultados

Los efectos de Cannabidiol y CBD-val-HS sobre las puntuaciones de preferencia de lugar condicionadas se resumen en la Figura 15. Las puntuaciones de preferencia fueron cercanas a cero en el grupo de control (vehículo + solución salina) lo que indica que hubo pocos cambios en las puntuaciones de CPP inicial y post acondicionamiento. Los animales tratados con morfina mostraron puntuaciones de preferencia más altas en comparación con el grupo de control. Entre los grupos de solución salina, CBD y CBD-val-HS no

mostraron ni preferencia ni aversión de lugar. Entre los grupos de morfina, CBD dependiente de la dosis disminuyó los puntajes que se acercaban a la significación a 10 mg/kg de CBD. Además, CBD-val-HS a 10.0 mg/kg eliminó completa y significativamente la preferencia por el lugar de morfina. Un ANOVA de dos vías reveló un efecto principal significativo para Morfina $F(1,91) = 24.57$, $p < 0.001$ y un efecto principal significativo para Cannabidiol $F(5,91) = 2.843$, $p = 0.021$. La interacción Cannabidiol x Morfina no fue significativa $F(5,91) = 1.50$, $p = 0.197$. Para determinar si la morfina poseía preferencia de lugar, se realizó un ANOVA de un factor de los grupos de vehículos y reveló un efecto significativo para la morfina $F(1,15) = 15.69$, $p < 0.001$. Para probar si CBD poseía propiedades gratificantes o aversivas, un ANOVA de una vía entre los grupos de solución salina no encontró efecto de tratamiento significativo $F(5,45) = 1.311$, $p = 0.276$. Para determinar si CBD atenuó la recompensa de los opiáceos, se realizó un ANOVA de una vía en los grupos de morfina y se encontró un efecto de tratamiento significativo $F(5,43) = 2.984$, $p = 0.021$.

Comparaciones planificadas entre los grupos de morfina encontraron puntajes de preferencia en el 10.0 mg/kg de CDB que se aproximaron a la significancia ($p = 0.051$) mientras que CBD-val-HS tuvo puntajes de preferencia significativamente más bajos que el vehículo de CDB ($p = 0.005$).

Conclusión

CBD-Mono-VHS significativamente ($P = 0.005$) bloqueó los efectos adictivos de la morfina a 10 mg/kg, mientras que CBD a la misma dosis mostró una tendencia a bloquear los efectos adictivos de la morfina ($P = 0.051$).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FORMULACIONES DE LA INVENCION

Las formulaciones de la presente invención comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos una composición de análogo de cannabidiol biológicamente activa de fórmula en la que R1 es un residuo de aminoácido natural, y sales/derivados de los mismos en una base de supositorio aceptable. Los análogos de cannabidiol biológicamente activos consisten esencialmente en análogos de cannabidiol biológicamente activos descritos anteriormente.

La formulación de supositorio de esta invención puede ser formulaciones de supositorios en las que la base del supositorio es una base hidrófila o una base lipófila. La formulación de supositorio puede comprender ventajosamente la base de formulación de supositorio que es una base hidrófila tal como polietilenglicol 1000.

La presente invención también se refiere a una formulación oftálmica tópica de análogos de cannabidiol biológicamente activos para reducir la presión intraocular y/o la inflamación en el tratamiento del glaucoma o las afecciones inflamatorias del ojo, respectivamente. La formulación comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de los

presentes análogos de cannabidiol biológicamente activos y sus sales en un soporte oftálmico aceptable.

Una realización adicional de la invención se refiere a una formulación de Parche de Extrusión en Fusión en Caliente (HME) de administración transmucosa para el tratamiento de cualquier enfermedad que responda al CBD. La formulación comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de las presentes composiciones análogas de cannabidiol biológicamente activas.

10 Las bases de los supositorios se pueden clasificar según sus características físicas en dos categorías principales y un tercer grupo misceláneo: (a) bases grasas u oleaginosas, (b) bases solubles en agua o miscibles en agua, y (c) bases misceláneas, generalmente combinaciones de lipófilos y
15 sustancias hidrofílicas.

Entre los materiales grasos u oleaginosos utilizados en las bases para supositorios se encuentran la manteca de cacao y muchos ácidos grasos hidrogenados de aceites vegetales, como el aceite de almendra de palma y el aceite de semilla de algodón. Además, los compuestos a base de grasa que contienen combinaciones de glicerina con los ácidos grasos de mayor peso molecular, tales como los ácidos palmítico y esteárico, se pueden encontrar en las bases grasas. Tales compuestos, tales como monoestearato de glicerilo y monopalmitato de glicerilo, son ejemplos de este tipo de agente. Las bases en
20 muchos productos comerciales emplean combinaciones variadas
25

de estos tipos de materiales para lograr la dureza deseada bajo condiciones de envío y almacenamiento y la calidad deseada de someterse a la temperatura del cuerpo para liberar sus medicamentos. Algunas bases se preparan con los
5 materiales grasos emulsionados o con un agente emulsionante presente para provocar la emulsificación cuando el supositorio contacta con los fluidos corporales acuosos. Este tipo de bases se colocan arbitrariamente en el tercer grupo de bases o misceláneo.

10 La manteca de cacao, NF, se define como la grasa obtenida de la semilla tostada de *Theobroma cacao*. A temperatura ambiente, es un sólido de color blanco amarillento que tiene un olor a chocolate débil y agradable. Químicamente, es un triglicérido (combinación de glicerina y uno o diferentes
15 ácidos grasos) principalmente de oleopalmitostearina y oleodistearina.

Otras bases en esta categoría incluyen productos comerciales como Fattibase (triglicéridos de palma, almendra de palma y aceites de coco con monoestearato de glicerilo auto-
20 emulsionante y estearato de polioxilo), las bases de Wecobee (triglicéridos derivados del aceite de coco) y las bases de Witepsol (triglicéridos de ácidos grasos C12-C18 saturados con porciones variadas de los correspondientes glicéridos parciales).

25 Los miembros principales de las bases de supositorios solubles en agua y miscibles con agua son gelatina

glicerina y polietilenglicoles. Los supositorios de gelatina glicerina se pueden preparar disolviendo gelatina granular (20%) en glicerina (70%) y añadiendo agua o una solución o suspensión del medicamento (10%).

- 5 Los polietilenglicoles son polímeros de óxido de etileno y agua preparados para varias longitudes de cadena, pesos moleculares y estados físicos. Están disponibles en varios rangos de peso molecular, los más utilizados son polietilenglicol 300, 400, 600, 1,000, 1500, 1540, 3350, 10 4000, 6000 y 8000. Las designaciones numéricas se refieren al peso molecular promedio de cada uno de los polímeros. Los polietilenglicoles que tienen pesos moleculares medios de 300, 400 y 600 son líquidos incoloros claros. Aquellos que tienen pesos moleculares promedio de más de 1000 son sólidos 15 blancos similares a la cera, cuya dureza aumenta con un aumento en el peso molecular. Los rangos de fusión para los polietilenglicoles son como siguen:

300	-15°C -18°C
400	4°C -8°C
600	20°C -25°C
1000	37°C -40°C
1450	43°C -46°C
3350	54°C -58°C
4600	57°C -61°C
6000	56°C -63°C

8000	60°C -63°C
------	------------

Se pueden combinar diversas combinaciones de estos polietilenglicoles por fusión, usando dos o más de los diversos tipos para lograr una base de supositorio de la consistencia y características deseadas.

En el grupo misceláneo de bases para supositorios hay mezclas de materiales oleaginosos e hidrosolubles o miscibles con el agua. Estos materiales pueden ser mezclas químicas o físicas. Algunas son emulsiones preformadas, generalmente del tipo agua en aceite, o pueden ser capaces de dispersarse en fluidos acuosos. Una de estas sustancias es el estearato de polioxilo 40, un agente tensioactivo que se emplea en varias bases de supositorios comerciales. El estearato de polioxilo 40 es una mezcla de ésteres de monoestearato y diestearato de dioles de polioxietileno mixtos y glicoles libres, siendo la longitud promedio del polímero equivalente a aproximadamente 40 unidades de oxietileno. La sustancia es un sólido ceroso de color blanco a claro que es soluble en agua. Su punto de fusión es generalmente de 39 °C a 45 °C (102 °F a 113 °F). Otros agentes tensioactivos útiles en la preparación de bases para supositorios también se incluyen en esta amplia agrupación. Se han preparado mezclas de muchas bases grasas (incluida la manteca de cacao) con agentes emulsionantes capaces de formar emulsiones de agua en aceite.

Estas bases contienen agua o soluciones acuosas y se dice que son hidrófilas.

Las bases de supositorios preferidas en la presente invención son bases solubles en agua o miscibles en agua.

5 La película o películas del dispositivo transmucosa (en el caso de la coextrusión o estratificación) generalmente comprenden al menos un polímero termoplástico soluble en agua, hinchable en agua o insoluble en agua. El polímero termoplástico utilizado para preparar la película de HME
10 puede incluir, pero no se limita a óxido de polietileno (PolyOx®), polivinilpirrolidona (Kollidon®), hidroxipropilcelulosa (Klucel®), etilcelulosa, metilcelulosa, alquilcelulosas, arcillas veegum, alginatos, PVP, ácido algínico, carboximetilcelulosa cálcica, celulosa
15 microcristalina (por ejemplo, Avicel™), polacrilina potásica (por ejemplo, Amberlite™), alginato de sodio, almidón de maíz, almidón de patata, almidón pre-gelatinizado, almidón modificado, agentes celulósicos, arcillas de montmorillonita (por ejemplo, bentonita) , gomas, agar, goma de algarroBILLA, goma karaya, pectina, tragacanto y otros formadores de
20 matriz conocidos por los expertos en la técnica.

Esta matriz puede contener opcionalmente un bioadhesivo (tal como Carbopol, policarbofílo, quitosano u otros conocidos por los expertos en la técnica, para mejorar aún más la
25 bioadhesividad del propio cannabinoide) o una capa bioadhesiva puede laminarse sobre la matriz película o parche

que contiene el cannabinoide. Además, se puede incorporar una capa de respaldo impermeable para asegurar el flujo unidireccional del fármaco a través de la mucosa del paciente. En algunos casos, una película o membrana que
5 controla la velocidad también puede estratificarse o pulverizarse sobre la matriz que contiene cannabinoides para controlar adicionalmente la velocidad de liberación de los activos.

La preparación transmucosa contendrá preferiblemente un
10 "potenciador de la penetración" (que también se puede denominar potenciador de la absorción o potenciador de la permeabilidad). Estos potenciadores de la penetración pueden incluir sales biliares, como desoxicolato de sodio, glicodesoxicolato de sodio, taurocolato de sodio y
15 glicocolato de sodio, surfactantes como lauril sulfato de sodio, polisorbato 80, laureth-9, cloruro de benzalconio, cloruro de cetilpiridinio y éteres polioxietileno monoalquil como las series de BRIJ® y MYRJ®. Los potenciadores de penetración adicionales para inclusión en la realización
20 incluyen ácidos benzoicos, tales como salicilato de sodio y salicilato de metoxi, ácidos grasos, tales como ácido láurico, ácido oleico, ácido undecanoico y oleato de metilo, alcoholes grasos, tales como octanol y nonanol, laurocapram, los polioles, propilenglicol y glicerina, ciclodextrinas,
25 los sulfóxidos, tales como dimetilsulfóxido y dodecilmethylsulfóxido, los terpenos, tales como mentol,

timol y limoneno, urea, quitosano y otros polímeros naturales y sintéticos.

La matriz moldeada por fusión en caliente o fundida en caliente también puede comprender como bioadhesivos tales como polímeros solubles en agua o hinchables en agua
5 derivados de ácido acrílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tales como los polímeros de ácido poliacrílico, incluidos carbómeros, policarbofilos y/o sales solubles en agua de un copolímero de metil vinil éter y ácido
10 o anhídrido maleico (Gantrez MS-955).

La preparación transmucosa también puede comprender uno o más agentes de ajuste del pH para mejorar la estabilidad y la solubilidad. Además, los agentes modificadores del pH pueden controlar la liberación de cannabinoides y mejorar la
15 bioadhesión. Un agente de ajuste del pH puede incluir, a modo de ejemplo y sin limitación, un ácido o base orgánica, un alfa-hidroxiácido o un beta-hidroxiácido. Los agentes adecuados incluyen ácido tartárico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido succínico y otros conocidos por los expertos
20 en la técnica.

La preparación transmucosa también puede comprender uno o más agentes de reticulación para reducir el tiempo de erosión de la matriz, controlar la liberación del cannabinoide o mejorar la bioadherencia. Un agente de reticulación puede
25 incluir, a modo de ejemplo y sin limitación, un ácido orgánico, un alfa-hidroxiácido o un beta-hemolítico-

hidroxiácido. Los agentes de reticulación adecuados incluyen ácido tartárico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido succínico y otros conocidos por los expertos en la técnica. La preparación transmucosa también puede contener otros
5 componentes que modifican las características de extrusión, moldeo o colado o propiedades físicas de la matriz. Tales otros componentes son bien conocidos por los expertos en las ciencias farmacéuticas e incluyen, por ejemplo, polietileno, xilitol, sacarosa, agentes tensioactivos, otros conocidos
10 por los expertos en la técnica, y combinaciones de los mismos.

La preparación transmucosa de la presente invención también puede incluir super-desintegrantes o absorbentes. Ejemplos de tales son almidón glicolato de sodio (Explotab™,
15 Primojel™) y croscarmelosa de sodio (Ac-Di-Sol®). Otros absorbentes adecuados incluyen PVP reticulado (Polyplasdone™ XL 10), arcillas, alginatos, almidón de maíz, almidón de patata, almidón pregelatinizado, almidón modificado, agentes celulósicos, arcillas de montmorilonita (bentonita), gomas,
20 agar, goma de algarroba, goma karaya, pectina, tragacanto y otros disgregantes conocidos por los expertos en la técnica. La preparación transmucosa de la invención puede incluir un agente quelante. Los agentes quelantes adecuados incluyen EDTA, ácidos policarboxílicos, poliaminas, derivados de los
25 mismos y otros conocidos por los expertos en la técnica.

La preparación transmucosa de la invención puede incluir un tensioactivo. Los tensioactivos adecuados incluyen estearato de sacarosa, derivados de vitamina E, lauril sulfato de sodio, dioctil sulfosuccinato de sodio y otros conocidos por los expertos en la técnica.

La preparación transmucosa de la invención puede incluir un conservante. Los conservantes incluyen compuestos usados para prevenir el crecimiento de microorganismos. Los conservantes adecuados incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, cloruro de benzalconio, propilparabeno, metilparabeno, alcohol bencílico, cloruro de cetilpiridinio, clorobutanol, ácido sórbico, fenol, alcohol feniletílico, nitrato fenilmercúrico y timerosal y otros conocidos por los expertos en la técnica.

Como se usa en el presente documento, el término "aromatizante", "sabor" o "fragancia" pretende significar un compuesto utilizado para impartir un sabor agradable y a menudo olor a una preparación farmacéutica, además de los aromatizantes naturales, también se usan muchos saborizantes sintéticos. Tales compuestos incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, aceite de anís, aceite de canela, cacao, mentol, aceite de naranja, aceite de menta y vainillina y otros conocidos por los expertos en la técnica. Los sabores incorporados en la composición se pueden elegir entre aceites saborizantes sintéticos y aromáticos aromatizantes y/o aceites naturales, extracto de plantas, hojas, flores,

frutos, etc. y combinaciones de los mismos. Estos pueden incluir aceite de gaulteria, aceite de clavo, aceite de laurel, aceite de anís, eucalipto, aceite de tomillo, aceite de hoja de cedro, aceite de nuez moscada, aceite de salvia, aceite de almendras amargas y aceite de casia. Además, son útiles como sabores la vainilla, los aceites cítricos, incluidos el limón, la naranja, la lima y el pomelo, y las esencias de frutas, incluidas la uva, manzana, pera, melocotón, fresa, frambuesa, cereza, ciruela, albaricoque, etc. Los sabores que se ha encontrado que son particularmente útiles incluyen sabores de naranja, uva, cereza y goma de mascar disponibles comercialmente y mezclas de los mismos. La cantidad de saborizante puede depender de varios factores, incluido el efecto organoléptico deseado.

Como se usa en el presente documento, el término "colorante" pretende significar un compuesto utilizado para impartir color a preparaciones farmacéuticas sólidas. Tales compuestos incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, FD&C Rojo No.3, FD&C Rojo No. 20, FD&C Amarillo No. 6, FD&C Azul No. 2, D&C Verde No. 5, D&C Naranja No. 5, D&C Rojo No. 8, caramelo y óxido férrico rojo. Otros colorantes adecuados incluyen dióxido de titanio y agentes colorantes naturales tales como extracto de uva, polvo de remolacha roja, carmín, cúrcuma, pimentón y otros conocidos por los expertos en la técnica.

La preparación transmucosa de la invención puede incluir un antioxidante para evitar el deterioro de las preparaciones por oxidación. Estos compuestos incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, 5 hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), ácido hipofosforoso, monotioglicerol, ascorbato sódico, formaldehído sulfoxilato sódico y metabisulfato sódico y otros conocidos por los de habilidad ordinaria en el arte. Otros antioxidantes adecuados incluyen, por ejemplo, 10 vitamina C, bisulfito de sodio, vitamina E y sus derivados, galato de propilo, un derivado de sulfito y otros conocidos por los expertos en la técnica.

La preparación transmucosa de la invención puede contener un modificador de la velocidad de liberación. Modificadores de 15 velocidad de liberación adecuados incluyen hidroxipropil celulosa (HPC), poli (óxido de etileno) (PEO), hidroxipropil metil celulosa (HPMC), etil celulosa, polímeros celulósicos, polímeros acrílicos, grasa, ceras, lípidos o una combinación de los mismos, en algunas realizaciones, el modificador de 20 la velocidad de liberación es policarbofilo, carbómero o un polisacárido.

Los ingredientes y productos químicos usados para producir la preparación transmucosa usada en esta invención son de calidad aceptable, preferiblemente de calidad 25 farmacéuticamente aceptable. Los análogos de cannabidiol

biológicamente activos que contienen preparación transmucosa son homogéneos y farmacéuticamente aceptables.

La preparación transmucosa de la invención puede incluir estabilizantes para proteger contra la hidrólisis. Tales
5 estabilizadores pueden incluir ciclodextrinas, agentes quelantes y tensioactivos.

La formulación oftálmica tópica puede ser soluciones, emulsiones, nanopartículas lipídicas o películas matriciales. Se pueden usar también otras formulaciones
10 conocidas por los expertos en la técnica. Las nanopartículas de lípidos, emulsiones lipídicas y películas de matriz son las formulaciones más preferidas.

Soluciones: las formulaciones de solución típicamente requerirán solubilizantes en vista de la baja solubilidad de
15 los cannabinoides. Los ejemplos de solubilizantes que se pueden usar en formulaciones oftálmicas incluyen tensioactivos que forman soluciones micelares (ya que el ingrediente activo está atrapado en micelas) y agentes formadores complejos o combinaciones de los mismos. Los
20 tensioactivos usados comúnmente en formulaciones oftálmicas incluyen sorbatos de polioxietileno (por ejemplo, Tween® 20 y Tween® 80), aceites de ricino hidrogenados polioxilados (por ejemplo, Cremophor® EL y Cremophor® RH 40), Tyloxapol®, éteres polioxietileno (serie Brij®) y ácido graso alcoxilado
25 ésteres (serie Myrj®), ésteres de sorbitán (serie Span®) y otros conocidos por una persona experta en la técnica. Las

ciclodextrinas, tales como hidroxipropil betaciclodextrina y beta ciclodextrinas metiladas al azar, se usan comúnmente para potenciar la solubilidad a través de la formación de complejos de inclusión. Los solubilizantes pueden usarse
5 solos o en combinación.

Emulsiones: una emulsión es un sistema que consiste en dos fases líquidas inmiscibles (aceite y agua), una de las cuales se dispersa en la otra como gotitas finas, el sistema se estabiliza mediante un tercer componente, el agente
10 emulsionante. Las emulsiones son inherentemente inestables, y los emulsionantes son esenciales tanto para su formación inicial como para la estabilidad a largo plazo. Las emulsiones pueden ser emulsiones de aceite en agua (fase oleosa dispersa en la fase acuosa) o agua en aceite (fase
15 acuosa dispersada en la fase oleosa). Una variedad de otros sistemas tales como emulsiones de aceite en agua en aceite y emulsiones de agua en aceite en agua también se conocen en la técnica. La fase oleosa puede consistir en aceites tales como aceite de soja, aceite de ricino, aceite de sésamo y
20 aceite de oliva. Se conocen en la técnica varios estabilizadores de emulsión o agentes emulsionantes e incluyen tensioactivos y fosfolípidos. Los ejemplos de emulsionantes tensioactivos incluyen sorbatos de polioxietileno (por ejemplo, Tween® 20 y Tween® 80), aceites
25 de ricino polioxilados hidrogenados (por ejemplo, Cremophor® EL y Cremophor® RH 40), Tyloxapol®, polioxietileno éteres

(serie Brij®) y ésteres de ácidos grasos alcoxilados (Serie Myrj®), ésteres de sorbitán (serie Span®) y otros conocidos por una persona experta en la materia. Los ejemplos de fosfolípidos que pueden usarse como estabilizadores de emulsión incluyen fosfolípidos (por ejemplo, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol).

Nanopartículas lipídicas: También se pueden usar dispersiones coloidales de nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs) o vehículos lipídicos nanoestructurados (NLCs) que contienen el agente terapéutico. En estos sistemas, el fármaco se carga en la fase lipídica, que luego se dispersa en la fase acuosa. En el diseño de SLNs, solo se usan lípidos que son sólidos a temperatura ambiente, mientras que con NLCs se usa una combinación de lípidos sólidos (por ejemplo, Compritol®, Precirol®) y líquidos (por ejemplo, Miglyol®). Además, los estabilizadores tales como tensioactivos y otros componentes tales como glicerol y propilenglicol también pueden usarse solos y en combinación de los mismos.

Películas de matriz: También se pueden usar películas de matriz preparadas utilizando extrusión por fusión o tecnología fundida. Las películas comprenden un polímero termoplástico como el vehículo del ingrediente activo. El polímero termoplástico utilizado puede incluir, pero no se limita a óxido de polietileno (PolyOx®), polivinilpirrolidona (Kollidon®), hidroxipropilcelulosa (Klucel®), etilcelulosa, metilcelulosa, alquilcelulosas,

arcillas veegum, alginatos, PVP, ácido algínico, carboximetilcelulosa calcio, celulosa microcristalina (por ejemplo, Avicel™), polacrilina de potasio (por ejemplo, Amberlite™), alginato de sodio, almidón de maíz, almidón de patata, almidón pre-gelatinizado, almidón modificado, agentes celulósicos, arcillas de montmorillonita (por ejemplo, bentonita), gomas, agar, goma de algarroBILLA, goma karaya, pectina, tragacanto y otros formadores de matriz conocidos por los expertos en la técnica. La película de matriz también puede comprender bioadhesivos tales como polímeros solubles en agua o hinchables en agua derivados de ácido acrílico o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, tales como los polímeros de ácido poliacrílico, incluidos carbómeros, policarbofilos y/o sales solubles en agua de un co-polímero de metil vinil éter y ácido o anhídrido maleico (Gantrez MS-955).

Las composiciones oftálmicas tópicas pueden incluir ingredientes poliméricos adicionales o alternativos y/o agentes de viscosidad para aumentar la estabilidad y/o la retención sobre la superficie ocular. Los ejemplos incluyen carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, polímero de carboxivinilo, goma de xantano, ácido hialurónico, cualquiera de sus combinaciones o similares.

Las composiciones oftálmicas tópicas pueden incluir un conservante. Los conservantes potenciales incluyen

compuestos de amonio cuaternario tales como cloruro de benzalconio, peróxido de hidrógeno y otros conservantes oftálmicos/sistemas conservantes conocidos en la técnica.

Otros aditivos tales como tampones y agentes de ajuste de la tonicidad también se pueden incluir en las formulaciones oftálmicas tópicas. Los ejemplos de agentes tamponantes incluyen tampones de citrato, borato y acetato. Los agentes de ajuste de la tonicidad pueden incluir, por ejemplo, cloruro de sodio y cloruro de potasio. Adicionalmente, estabilizantes (por ejemplo, antioxidantes y agentes quelantes) y potenciadores de la penetración, p. ej. también pueden incluirse cloruro de benzalconio, saponinas, ácidos grasos, éteres grasos de polioxietileno, ésteres alquílicos de ácidos grasos, pirrolidonas, polivinilpirrolidona, ácidos pirúvicos, ácidos piroglutámicos y sus mezclas, entre otros.

La descripción anterior es solo representativa de realizaciones y ejemplos ilustrativos. Para comodidad del lector, la descripción anterior se ha centrado en un número limitado de ejemplos representativos de todas las posibles realizaciones, ejemplos que enseñan los principios de la invención. La descripción no ha intentado enumerar exhaustivamente todas las variaciones posibles o incluso combinaciones de esas variaciones descritas. Que las realizaciones alternativas pueden no haberse presentado para una parte específica de la invención, o que otras formas de realización alternativas no descritas pueden estar

disponibles para una parte, no se debe considerar una renuncia de esas realizaciones alternativas. Un experto en la técnica apreciará que muchas de esas realizaciones no descritas implican diferencias en tecnología y materiales en
5 lugar de diferencias en la aplicación de los principios de la invención. En consecuencia, la invención no pretende limitarse a menos del alcance expuesto en las siguientes reivindicaciones y equivalentes.

Referencias

- Alexander A, Smith, PF Rosengren, RJ. Cannabinoids in the treatment of cancer. *Cancer Letters* 2009; 285:6-12.
- Amptoulach S, Tsavaris N. Neurotoxicity caused by the
5 treatment with platinum analogues. *Chemotherapy Research and Practice*. 2011; Article ID 843019.
- Basbaum AI, Fields HL. Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Annual Review of Neuroscience*. 1984; 7: 309-338.
- 10 Chiou LC, Hu SS, Ho Y. Targeting the cannabinoid system for pain relief? *Act Anaesthesiologica Taiwanica*. 2013; 51:161-170.
- Cox ML, Haller VL, Welch SP. Synergy between Δ^9 -tetrahydrocannabinol and morphine in the arthritic rat.
15 *European Journal of Pharmacology*. 2007; 567: 125-130.
- Guindon J, Lai Y, Takacs SM, Bradshaw HB, Hohmann AG. Alterations in endocannabinoid tone following chemotherapy-induced peripheral neuropathy: effects of endocannabinoid deactivation inhibitors targeting fatty-acid amide hydrolase
20 and monoacylglycerol lipase in comparison to reference analgesics following cisplatin treatment. *Pharmacological Research*. 2012; 67, 94-109.
- Hall W, Christie M, Currow D. Cannabinoids and cancer: causation, remediation, and palliation. *The Lancet*. 2005;
25 6:35-42.

- Khasabova IA, Khasabov S, Paz J, Rose C, Simone DA. Cannabinoid type-1 receptor reduces pain and neurotoxicity produced by chemotherapy. *Neurobiology of Disease*. 2012; 32, 7091-7101.
- 5 Kim, JH, Dougherty PM, Abdi S. Basic science and clinical management of painful and non-painful chemotherapy-related neuropathy. *Gynecologic Oncology*. 2015; 136:453-459.
- Mansour A, Khachaturian H, Lewis ME, Akil H, Watson SJ. Anatomy of SNC opioid receptors. *Trends in Neuroscience*.
 10 1988; 11: 308-314.
- Miltenburg NC, Booger W. Chemotherapy-induced neuropathy: a comprehensive survey. *Cancer Treatment Reviews*. 2014; 40:872-882.
- Neelakantan H, Tallarida RJ, Reishcenbach ZW, Tuma RF, Ward
 15 SJ, Walker EA. Distinct interactions of cannabidiol and morphine in three nociceptive behavioral models in mice. *Behavioural Pharmacology*. 2014; 26:304-314.
- Paice JA. Chronic treatment-related pain in cancer survivors. *Pain*. 2010; 152:84-89.
- 20 Park HJ, Stokes JA, Pirie E, Skahen J, Shtaerman Y, Yaksh TL. Persistent hyperalgesia in the cisplatin-treated mouse as defined by threshold measures, the conditioned place preference paradigm, and the changes in dorsal root ganglia activated transcription factor 3: the effects of gabapentin,
 25 ketorolac, and entanercept. *Anesthesia and Analgesia*. 2012; 116:224-231.

Pisanti S, Picardi P, D'Alessandro A, Laezza C, Bifulco M. The endocannabinoid signaling system in cancer. Trends in Pharmacological Sciences. 2013; 34, 273-282.

Toth C., Au S. A prospective identification of neuropathic
5 pain in specific chronic polyneuropathy syndromes and response to pharmacological therapy. Pain. 2008; 138:657-666.

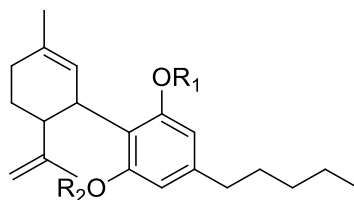
Vera G, Cabezos PA, M[~]artin MI, Abalo R. Characterization of cannabinoid-induced relief of neuropathic pain in a rat model
10 of cisplatin-induced neuropathy. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 2013; 105, 205-212.

Wilson-Poe AR, Pocius E, Herschbach M, Morgan MM. The periaqueductal gray contributes to bi-directional enhancement of antinociception between morphine and
15 cannabinoids. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 2013; 103: 444-449.

Wolf S., Barton D., Kottschade L., Grothey A., Lopriniz C. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: prevention and treatment strategies. European Journal of Cancer. 2008;
20 44:1507-1515.

Reivindicaciones para entrar en fase nacional

1. Un análogo de cannabidiol biológicamente activo de la fórmula I



I

en donde uno de R_1 o R_2 o ambos es/son un residuo de éster de aminoácido de un resto formado por la reacción de un grupo carboxilo de un aminoácido con uno o ambos grupos fenólicos de cannabidiol; o uno de R_1 o R_2 (en el caso del mono) es hidrógeno (H), (es decir, no derivatizado) y el otro R_1 o R_2 es un residuo de éster de aminoácido o un residuo de éster.

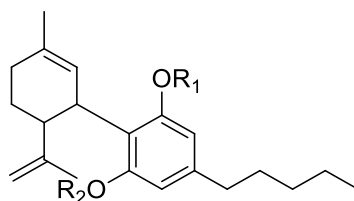
en donde uno o ambos R_1 y R_2 es/son un resto éster de aminoácido que se hace reaccionar adicionalmente con un ácido dicarboxílico o derivado de ácido dicarboxílico para formar un resto amida por la reacción del grupo amino del éster de aminoácido con un resto carboxilo del ácido dicarboxílico o derivado de ácido dicarboxílico y sales de los mismos.

2. Los análogos de cannabidiol biológicamente activos de la reivindicación 1, en donde el aminoácido es uno pero no está limitado a uno de Alanina, Arginina, Asparagina, Ácido Aspártico, Cisteína, Glutamina, Ácido Glutámico, Glicina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina.

3. Los análogos de cannabidiol biológicamente activos de la reivindicación 1, en donde el ácido dicarboxílico es un compuesto orgánico que contiene dos grupos carboxilo funcionales ($-\text{COOH}$) que puede escribirse como $\text{HO}_2\text{C}-\text{R}-\text{CO}_2\text{H}$, donde R puede ser de cadena lineal o ramificada alifática o aromática

4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R_1 o R_2 o ambos son residuos de éster de aminoácidos naturales y sus derivados y sales de los mismos.
- 5 5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es CBD-Di-Alaninato-Di-Hemisuccinato, CBD -Di-Valinato-Di-HS, CBD-Mono-Valinato-Mono-Hemisuccinato, o CBD-monovalinato-dihemisuccinato.
- 10 6. El compuesto de la reivindicación 1, donde en R_1 y R_2 son los residuos del éster de valinato con los grupos fenólicos de CBD con el grupo amino, formando un enlace amida con uno de los grupos carboxílicos de ácido succínico (es decir, compuesto 1, CBD-Divalinato-Di-HS).
- 15
7. El compuesto de la reivindicación 1, donde en R_1 es el residuo de éster de valinato con el grupo amino de valina, formando un enlace amida con uno de los grupos carboxílicos de ácido succínico y R_2 es el residuo de ácido succínico
- 20 acoplado con el hidroxilo fenólico con un enlace éster (es decir, compuesto 2, CBD-Monovalina-Di-HS).
8. El compuesto de la reivindicación 1 donde en R_2 es el residuo de éster valinato con el grupo amino de valina,
- 25 formando un enlace amida con uno de los grupos carboxílicos de ácido succínico y $R_2 = H$ (es decir, compuesto 3, CBD-Monovalina-Mono-HS).
9. Una composición farmacéutica que comprende análogos de
- 30 cannabidiol biológicamente activos de la reivindicación 1 en un vehículo farmacéuticamente aceptable.
10. Una composición farmacéutica que comprende análogos de
- 35 un vehículo farmacéuticamente aceptable.

11. Un análogo de cannabidiol biológicamente activo de la fórmula I



I

5 en donde uno de R₁ o R₂ o ambos es/son un residuo de éster de un resto formado por la reacción de un grupo carboxilo de un ácido dicarboxílico o derivado de ácido dicarboxílico con uno o ambos grupos fenólicos de cannabidiol; o uno de R₁ o R₂ es el residuo de éster de aminoácido de la reacción del
10 grupo fenólico de cannabidiol con el grupo carboxilo de un aminoácido y el otro R₁ o R₂ es el residuo éster de la reacción del grupo fenólico de cannabidiol con el carboxilo de un ácido dicarboxílico o derivado de ácido dicarboxílico; o uno de R₁ o R₂ (en el caso del mono) es hidrógeno (H), (es decir,
15 no derivatizado) y el otro R₁ o R₂ es un residuo de éster de aminoácido o un residuo de éster, en el que R₁ o R₂ es/son un resto éster de aminoácido el éster de aminoácido se hace reaccionar adicionalmente con un ácido dicarboxílico o derivado de ácido dicarboxílico para formar un resto amida
20 mediante la reacción del grupo amino del éster de aminoácido con un resto carboxilo del ácido dicarboxílico o derivado de ácido dicarboxílico y sales de los mismos

12. Los análogos de cannabidiol biológicamente activos de la reivindicación 11, donde el aminoácido es uno pero no está
25 limitado a uno de Alanina, Arginina, Asparagina, Ácido Aspártico, Cisteína, Glutamina, Ácido Glutámico, Glicina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Prolina, Serina, Treonina, Triptófano, Tirosina y Valina.
30

13. Los análogos de cannabidiol biológicamente activos de la reivindicación 11, en donde el ácido dicarboxílico es un compuesto orgánico que contiene dos grupos carboxilo
35 funcionales (-COOH) que puede escribirse como HO₂C-R-CO₂H, donde R puede ser de cadena lineal o ramificada alifática o aromática.

14. El compuesto de la reivindicación 11 en el que R_1 o R_2 o ambos son residuos de éster de aminoácidos naturales y sus derivados y sales de los mismos.

5

15. Una composición farmacéutica que comprende análogos de cannabidiol biológicamente activos de la reivindicación 11 en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 16. Una composición farmacéutica que comprende análogos de cannabidiol biológicamente activos de la reivindicación 12 en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15

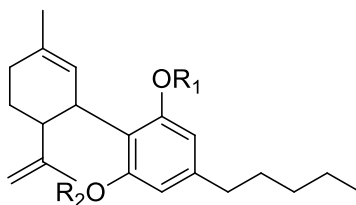
20

25

30

Resumen

Análogos de cannabidiol biológicamente activos que comprenden un compuesto de fórmula



5 en donde uno de R_1 o R_2 o ambos es/son el residuo de un resto formado por la reacción de un grupo amino del éster de aminoácido de R_1 o R_2 o ambos con un ácido dicarboxílico o un derivado de ácido dicarboxílico y el otro R_1 o R_2 (en el
10 caso del mono) es el residuo de un ácido dicarboxílico o derivado de ácido dicarboxílico o Hidrógeno (H), (es decir, no derivatizado), y sus sales. Estos análogos de CBD son útiles en el manejo del dolor en oncología y otros entornos clínicos en los que se presenta neuropatía. Además, estos
15 análogos de CBD son útiles para bloquear las propiedades adictivas de los opiáceos.