

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 909 350**

(51) Int. Cl.:

**A61K 45/00** (2006.01) **A61P 1/08** (2006.01)  
**A61K 31/05** (2006.01)  
**A61K 31/192** (2006.01)  
**A61K 31/337** (2006.01)  
**A61K 31/352** (2006.01)  
**A61K 31/495** (2006.01)  
**A61K 36/185** (2006.01)  
**C07C 69/16** (2006.01)  
**C07C 69/28** (2006.01)  
**C07C 69/94** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.06.2018 PCT/IL2018/050678**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2018 WO18235079**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2018 E 18739958 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.01.2022 EP 3509638**

---

(54) Título: **Composiciones de ésteres de ácido cannabidiólico y usos de las mismas**

(30) Prioridad:

**20.06.2017 US 201762522243 P**

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

**06.05.2022**

(73) Titular/es:

**VISSUM RESEARCH DEVELOPMENT COMPANY  
OF THE HEBREW UNIVERSITY OF JERUSALEM  
LTD. (50.0%)  
Hi-Tech Park, Edmond J. Safra Campus, Givat  
Ram, P.O.B 39135  
9139002 Jerusalem, IL y  
UNIVERSITY OF GUELPH (50.0%)**

(72) Inventor/es:

**MECHOULAM, RAPHAEL;  
PARKER, LINDA;  
PERTWEE, ROGER;  
WELLER, ARON;  
TAM, JOSEPH;  
HAJ, CHRISTEEN y  
SMOUM, REEM**

(74) Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**ES 2 909 350 T3**

---

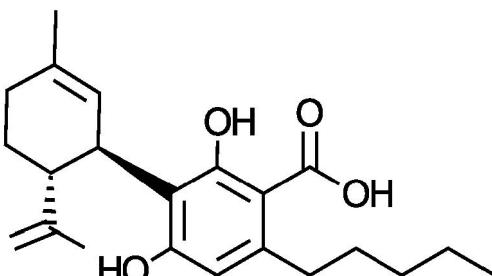
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar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

## DESCRIPCIÓN

Composiciones de ésteres de ácido cannabidiólico y usos de las mismas

## 5 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El ácido cannabidiólico (CBDA) es un componente importante de *Cannabis sativa*. Fue aislado por primera vez en 1955 (Krejčí y Šantavý, 1955) y su estructura fue dilucidada en 1965 mediante el análisis de las propiedades físicas de su éster metílico (Mechoulam y Gaoni, 1965). Posteriormente se informó de su síntesis a partir del cannabidiol (Mechoulam y Ben-Zvi, 1969).



25 CBDA

El ácido cannabidiólico (CBDA) se descarboxila gradualmente, mientras aún está en la planta, a cannabidiol (Mechoulam, 1973), un proceso que se acelera con el calor. Mientras que el cannabidiol ha sido el tema de un gran número de publicaciones, y sus propiedades biológicas/terapéuticas se han identificado ahora razonablemente bien (Mechoulam et al., 2002; Zhornitsky & Potvin, 2012; Cascio y Pertwee, 2014), nuestro conocimiento de la farmacología del ácido cannabidiólico es mucho más limitada.

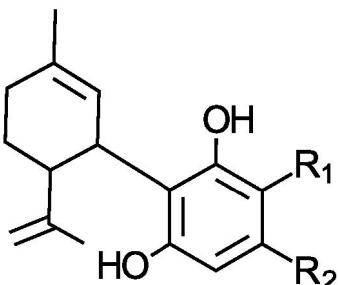
La cantidad limitada de información sobre este fitocannabinoide que se ha publicado sugiere que puede tener una amplia variedad de acciones y efectos. Por consiguiente, se ha demostrado que inhibe la migración de células de cáncer de mama (Takeda et al., 2017) y provoca una regulación por disminución de la ciclooxygenasa-2 (COX-2) (Takeda et al., 2014). La evidencia reciente sugiere que el CBDA (a una dosis tan baja como 1 µg·kg<sup>-1</sup> i.p.) puede inducir potentes efectos contra las náuseas mediados por el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, como lo indica su aparente capacidad para prevenir tanto los vómitos en *Suncus murinus* como el comportamiento inducido por náuseas agudas de boca abierta condicionado en ratas (Grill & Norgren, 1978) potenciando la activación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> (Bolognini et al., 2013; Rock et al., 2013; 2015b). Además de reducir las náuseas agudas, el CBDA tiene el potencial de reducir las náuseas anticipatorias (condicionadas), un efecto experimentado por los pacientes de quimioterapia tras volver a la clínica en la que recibieron su tratamiento para las náuseas (Rock et al., 2014; 2015a; 2016). Actualmente no hay tratamientos selectivos eficaces para las náuseas anticipatorias una vez que se desarrollan en dichos pacientes. Por lo tanto, es digno de mención que Rock et al. (2014; 2015a; 2016) han demostrado que el CBDA reduce la apertura de boca condicionada provocada por el contexto (un modelo de náuseas anticipatorias), también mediante un mecanismo de acción dependiente de 5-HT<sub>1A</sub>. Finalmente, al igual que el CBD, también se ha demostrado que el CBDA produce efectos similares a los ansiolíticos en condiciones de alto estrés en dosis tan bajas como 0,1 µg·kg<sup>-1</sup>, i.p. (Rock et al., 2017). La WO 2015158381 A1 divulga derivados de cannabidiol quinona y la síntesis de esos compuestos. La US 2010298579 A1 divulga un proceso para preparar estereoisómeros y homólogos de cannabinoides. Yukihiro Shoyama et al. divulgan el aislamiento y la estructura de cuatro nuevos ácidos propilcannabinoides de la ‘variante Meao’ de cannabis tailandés (Yukihiro Shoyama et al., Chemical & Pharmaceutical Bulletin, vol. 25(9), p. 2306-2311, 1 de enero de 1977). Petrzilka et al. divulgan la síntesis de (-)-cannabidiol a partir de (+)-cis- y (+)-trans-p-mentadien-(2,8)-ol-(1) y olivetol (Petrzilka T et al., Helvetica Chimica Acta, vol 54(123,4), p. 1102-1133, 1 de enero de 1969). La WO 2015198071 A1 divulga ingredientes farmacéuticos activos que comprenden cannabinoides para su uso en el tratamiento del cáncer.

55 Sin embargo, el CBDA es altamente inestable, especialmente cuando se somete a calor. Por lo tanto, había una necesidad creciente de encontrar un análogo de CBDA, que tuviese una mayor estabilidad. Sorprendentemente, los inventores de la presente solicitud descubrieron que los derivados de éster de CBDA proporcionaban tanto la estabilidad posterior buscada como un perfil biológico similar o más eficaz que el CBDA.

## 60 SUMARIO DE LA INVENCIÓN

La invención proporciona, por lo tanto, un compuesto que tiene la fórmula general (I):

5



10

(I)

para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma asociado con el receptor de 5-HT<sub>1A</sub>.

15

R<sub>1</sub> se selecciona de -C(=O)OR<sub>3</sub>, -OC(=O)R<sub>4</sub>; R<sub>2</sub> se selecciona de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado y alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado; cada uno independientemente opcionalmente sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado de hidroxi (-OH), halógeno, amina y amida o cualquier combinación de los mismos; R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan cada uno independientemente de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado (tales alquilo, alquenilo o alquinilo están opcionalmente sustituidos con por lo menos un sustituyente seleccionado de hidroxi (-OH), halógeno, amina y amida o cualquier combinación de los mismos), halógeno, amina y amida. Además, la afección, enfermedad o síntoma se selecciona de ansiedad, estrés, depresión, esquizofrenia, pánico, síndrome de abstinencia, enfermedad autoinmune, inflamación, obesidad, síndrome metabólico, retinopatía, náuseas, vómitos, disfunción renal, isquemia/lesión por reperfusión renal, daño neuronal, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, infarto cerebral, encefalopatía hepática, lesión cerebral traumática, isquemia cerebral, lesión de la médula espinal, angiogénesis, epilepsia, convulsiones, dolor neuropático, obstrucción de las vías respiratorias, comportamiento obsesivo-compulsivo, deterioro cognitivo, deseo y función sexual deteriorados, alteración del sueño, supresión respiratoria relacionada con opioides, adicción y cualquier combinación de los mismos.

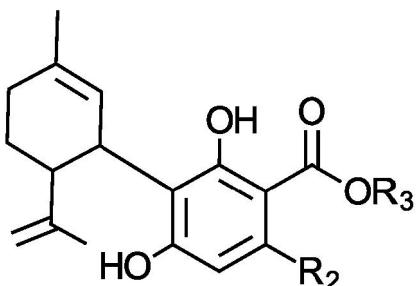
20

25

30

La invención proporciona además un compuesto que tiene la fórmula general (II):

35



40

(II)

para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma como se ha mencionado anteriormente.

50

R<sub>2</sub> se selecciona de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado y alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado; cada uno independientemente opcionalmente sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado de hidroxi, halógeno, amina y amida o cualquier combinación de los mismos; R<sub>3</sub> se selecciona de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado y alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado (dichos alquilo, alquenilo o alquinilo están cada uno opcionalmente sustituidos con por lo menos un sustituyente seleccionado de hidroxi (-OH), halógeno, amina y amida o cualquier combinación de los mismos), halógeno, amina y amida.

55

60

65

En algunas realizaciones, R<sub>2</sub> es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado. En otras realizaciones, R<sub>2</sub> es un alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado. En realizaciones adicionales, R<sub>2</sub> es un alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado o un alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado.

En algunas realizaciones, R<sub>3</sub> es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado. En otras realizaciones, R<sub>3</sub> es un alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado. En realizaciones adicionales, R<sub>3</sub> es un alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado o un alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado. En otras realizaciones más, R<sub>3</sub> se selecciona de un halógeno, una amina y una amida. En algunas realizaciones, R<sub>3</sub> siendo un alquilo, alquenilo o alquinilo o alqueninilo está opcionalmente

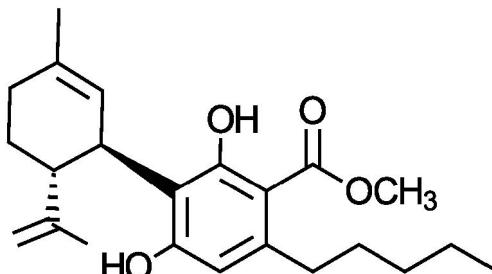
sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado de hidroxi (-OH), halógeno, amina y amida o cualquier combinación de los mismos.

Un compuesto de la presente invención puede ser HU-580:

5

10

15



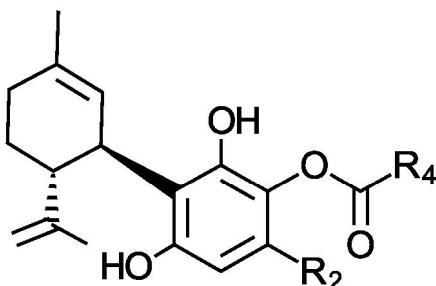
HU-580.

20

La divulgación proporciona además un compuesto que tiene la fórmula general (III):

25

30



(III)

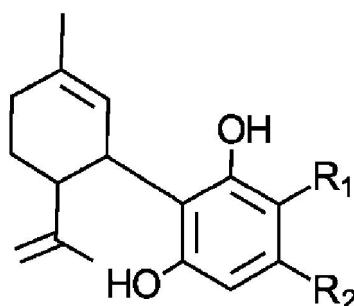
35

para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma como se ha mencionado anteriormente. R<sub>2</sub> se selecciona de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado y alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado; cada uno independientemente opcionalmente sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado de hidroxi, halógeno, amina y amida o cualquier combinación de los mismos; R<sub>4</sub> se selecciona de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado (dichos alquilo, alquenilo o alquinilo están cada uno opcionalmente sustituidos con por lo menos un sustituyente seleccionado de hidroxi (-OH), halógeno, amina y amida o cualquier combinación de los mismos), halógeno, amina y amida. De acuerdo con otra realización, la invención también proporciona un compuesto que tiene la fórmula general (I):

45

50

55



(I)

60

65

en donde R<sub>1</sub> se selecciona de -C(=O)OR<sub>3</sub>, -OC(=O)R<sub>4</sub>; R<sub>2</sub> se selecciona de un alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado o alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado; cada uno independientemente opcionalmente sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado de hidroxi, halógeno, amina y amida o cualquier combinación de los mismos; R<sub>3</sub> se selecciona de un alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, halógeno, amina y amida; y R<sub>4</sub> se selecciona de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado y alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, halógeno, amina y amida.

El término "*halógeno*" significa F, Cl, Br o I.

5 El término "*amina*" como se usa en la presente se refiere a un radical -NRR'R" en donde cada uno de R, R' y R" se selecciona de H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado y alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado.

10 El término "*amida*", como se usa en la presente, se refiere a un radical -C(=O)NRR'R" o -NRC(=O)R', en donde cada uno de R, R' y R" se selecciona de H, lineal o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado y alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado.

15 El término "*alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>*" como se usa en la presente representa un grupo hidrocarbonado lineal, ramificado o saturado que tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 átomos de carbono, todos conectados a través de enlaces sigma.

20 El término "*alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>*" como se usa en la presente representa un grupo hidrocarbonado lineal o ramificado que tiene 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 átomos de carbono, en donde por lo menos uno de los enlaces que conectan dichos átomos de carbono es un enlace doble, todos los demás enlaces pueden ser de cualquier otro tipo (simples y/o dobles).

25 El término "*alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>*" como se usa en la presente representa un grupo hidrocarbonado lineal o ramificado que tiene 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 átomos de carbono, en donde por lo menos uno de los enlaces que conectan dichos átomos de carbono es un enlace triple, todos los demás enlaces pueden ser de cualquier otro tipo (simples y/o triples). El término "*alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub>*" como se usa en la presente representa un grupo hidrocarbonado lineal o ramificado que tiene 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 átomos de carbono, en donde por lo menos uno de los enlaces que conectan dos átomos de carbono adyacentes es un enlace doble y por lo menos uno de los enlaces que conectan dos átomos de carbono adyacentes es un enlace triple.

30 Como se usa en la presente, el término "*sustituyente opcional*" indica que el sustituyente correspondiente puede estar presente o puede estar ausente. Por consiguiente, un compuesto de la invención puede tener 1, 2, 3 o más sustituyentes optionales en cualquier punto del radical que se define que tiene esta sustitución opcional.

35 Debe entenderse que los compuestos proporcionados en la presente pueden contener uno o más centros quirales. Tales centros quirales pueden ser cada uno de la configuración (R) o (S). En caso de que un compuesto de la invención contenga más de un centro quiral, cada uno de esos centros quirales puede ser de configuración (R) o (S), independientemente. Por tanto, los compuestos proporcionados en la presente pueden ser enantioméricamente puros o ser mezclas estereoisoméricas o diastereoisómeras.

40 La invención proporciona además una composición que comprende por lo menos un compuesto como se define en la presente anteriormente y a continuación, de fórmula general (I) y (II) para su uso en el tratamiento de las afecciones, enfermedades o síntomas como se describe en la presente anteriormente.

45 En un aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto como se define en la presente con anterioridad y a continuación, de fórmula general (I) y (II), para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma asociado con el receptor de 5-HT<sub>1A</sub>.

50 En un aspecto, la invención proporciona un compuesto como se define en la presente con anterioridad y a continuación, de fórmula general (I) y (II), para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma seleccionado de náuseas, vómitos, convulsiones y cualquier combinación de los mismos.

55 En un aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto como se define en la presente con anterioridad y a continuación, de fórmula general (I) y (II), para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma asociado con la depresión.

60 Por tanto, la invención proporciona un compuesto como se define en la presente con anterioridad y a continuación, de fórmula general (I) y (II), para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma seleccionado de ansiedad, estrés, depresión, esquizofrenia, pánico, síndrome de abstinencia, enfermedad autoinmune, inflamación, reducción del tamaño del infarto, aumento del flujo sanguíneo en ataque cerebral, obesidad, síndrome metabólico, retinopatía, náuseas, lesión por isquemia de miocardio, hígado, renal/reperfusión, daño neuronal, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, infarto cerebral, encefalopatía hepática, lesión traumática cerebral, isquemia cerebral, lesión de la médula espinal, efectos de rescate de la memoria, cáncer, angiogénesis, epilepsia, convulsiones, dolor neuropático, obstrucción de las vías respiratorias, comportamiento obsesivo-compulsivo, deterioro cognitivo, impulso y función sexual deteriorados, trastornos del sueño, supresión respiratoria relacionada con opioides, adicción y cualquier combinación de los mismos.

- En otro aspecto, la presente divulgación se refiere a un método que puede ser útil en el tratamiento de una enfermedad, la enfermedad caracterizada por ser mejorada por el ácido cannabidiólico (CBDA), que comprende: administrar a un sujeto con necesidad de dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como se define en la presente con anterioridad y a continuación, de fórmula general (I) y (II).
- 5 Ejemplos no limitativos de enfermedades, afecciones y síntomas son: ansiedad y estrés, depresión, esquizofrenia, pánico y ansiedad, síntomas de abstinencia en la adicción al cannabis y al tabaco, efecto facilitador de la recompensa de la morfina y la cocaína, enfermedades autoinmunes de cualquier tipo (siendo la diabetes tipo 1 y la GVHD ejemplos específicos no limitativos), inflamación (enfermedad de Crohn, colitis, pancreatitis, artritis 10 reumatoide), reducción del tamaño del infarto y aumento del flujo sanguíneo en el ataque cerebral, obesidad (tratada mediante la reducción del consumo de alimentos o mediante la disminución del apetito), síndrome metabólico, retinopatía asociada con diabetes, náuseas, lesión isquémica/por reperfusión de miocárdico, hepática, renal, daño neuronal (debido a enfermedades o lesiones neurológicas, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, infarto cerebral, encefalopatía hepática, lesión cerebral traumática, isquemia cerebral, 15 lesión de la médula espinal, efectos de rescate de la memoria, cáncer y resistencia a la quimioterapia para el cáncer, migración de células cancerosas (metástasis), angiogénesis, epilepsia y convulsiones, dolor crónico inflamatorio y neuropático, obstrucción de las vías respiratorias, conducta obsesivo-compulsiva y cualquier combinaciones de los mismos.
- 20 En algunas realizaciones, las condiciones y síntomas de la enfermedad se seleccionan de náuseas (tanto anticipatorias como agudas), vómitos, ansiedad y trastornos afectivos de cualquier tipo, como depresión (incluyendo depresión mayor, depresión leve y enfermedad bipolar).
- 25 La presente divulgación se refiere a un método que puede ser útil en el tratamiento de una enfermedad en la que un efecto beneficioso clínico es evidente mediante la activación de los receptores 5HT<sub>1A</sub>, que comprende administrar a un sujeto con necesidad de dicho tratamiento una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto de fórmula general (I) o (II).
- 30 Ejemplos no limitativos de tales enfermedades y afecciones son: hipertensión, ansiedad, vómitos y náuseas, dolor, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, deterioro cognitivo, impulso y función sexuales deterioradas, obesidad (el efecto es la supresión del consumo de alimentos), trastornos del sueño (en particular corta duración de rem), supresión respiratoria relacionada con opioides, adicción y cualquier combinación de los mismos.
- 35 En particular, las enfermedades que muestran una evolución clínica mejorada, debido a la activación de 5HT<sub>1A</sub>, son las náuseas (tanto anticipatorias como agudas) y los vómitos (antieméticos y antinauseosos), la ansiedad y los trastornos afectivos de cualquier tipo, principalmente la depresión (incluyendo la depresión mayor, depresión leve y enfermedad bipolar) y cualquier combinación de los mismos.
- 40 Por tanto, cuando se hace referencia en la presente a una "afección, síntoma o enfermedad asociada con el receptor 5HT<sub>1A</sub>", debe entenderse que incluye hipertensión, ansiedad, vómitos y náuseas, dolor, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson, deterioro cognitivo, deseo y función sexual alterados, obesidad (el efecto es la supresión del consumo de alimentos), trastornos del sueño (en particular corta duración de rem), supresión respiratoria relacionada con los opioides, adicción, náuseas (tanto anticipatorias como agudas) y vómitos (antieméticos y antinauseosos), ansiedad y trastorno afectivo de cualquier tipo, principalmente depresión (incluyendo depresión mayor, depresión leve y enfermedad bipolar) y cualquier combinación de los mismos.
- 45 En otro aspecto, la presente divulgación se refiere a un método que puede ser útil en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de: náuseas (tanto anticipatorias como agudas), ansiedad y trastorno afectivo de cualquier tipo, principalmente depresión (incluyendo depresión mayor, depresión leve y depresión bipolar); que comprende: administrar a un sujeto con necesidad de dicho tratamiento una cantidad eficaz de CBDA-ME.
- 50 En otro de sus aspectos, la invención proporciona un compuesto como se divulga en la presente con anterioridad y a continuación para su uso en el tratamiento de por lo menos una enfermedad, afección, síntoma o trastorno asociado con la disfunción renal. La divulgación proporciona además un método que puede ser útil en el tratamiento de por lo menos una enfermedad, afección, síntoma o trastorno asociado con la disfunción renal en un paciente con necesidad de ello; que comprende administrar a dicho paciente por lo menos un compuesto de la presente invención.
- 55 Cuando se hace referencia a "disfunción renal" en el contexto de la presente solicitud, debe entenderse que incluye cualquier tipo (cuantitativo o cualitativo) de reducción o insuficiencia de la función renal y puede ser aguda o crónica. Tal disfunción renal puede estar provocada por cualquier motivo incluyendo lesión, enfermedad, disposición genética y demás. Las causas de la disfunción renal aguda incluyen presión arterial baja, bloqueo del tracto urinario, medicamentos, degradación muscular, síndrome urémico hemolítico y cualquier combinación de los mismos. Causas adicionales de disfunción renal crónica incluyen, diabetes, presión arterial alta, síndrome nefrótico, enfermedad renal 60
- 65

poliquística y cualquier combinación de las mismas.

En algunas realizaciones, tales enfermedades, afecciones, síntomas y trastornos que están asociados con la disfunción renal incluyen nefropatía diabética, lesiones renales crónicas y agudas, enfermedades renales crónicas y agudas, insuficiencia renal crónica reagudizada, daño renal asociado a la obesidad y cualquier combinación de los mismos.

Las afecciones y los síntomas asociados con la disfunción renal incluyen: niveles altos de urea en sangre, vómitos, diarrea, náuseas, pérdida de peso, micción nocturna, cambios en la frecuencia y cantidad de la micción, sangre en la orina, presión o dificultad para orinar, acumulación de fosfatos en la sangre, picazón, daño óseo, falta de unión en huesos rotos, calambres musculares, acumulación de potasio en la sangre, ritmos cardíacos anormales, parálisis muscular, fallo de los riñones para eliminar el exceso de líquido, hinchazón de las piernas, tobillos, pies, cara, o manos, dificultad para respirar, enfermedad renal poliquística, quistes grandes llenos de líquido en los riñones, dolor en la espalda o el costado, disminución de la producción de eritropoyetina, producción disminuida de glóbulos rojos, anemia, orina espumosa o burbujeante, hinchazón en las manos, pies, abdomen o cara, pérdida de apetito, exceso de proteínas en sangre y orina, convulsiones cuando se administra con altas dosis de penicilina y cualquier combinación de los mismos.

La presente divulgación también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención mezclado con productos auxiliares farmacéuticamente aceptables y, opcionalmente, otros agentes terapéuticos. Los productos auxiliares deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los demás ingredientes de la composición y no perjudiciales para los receptores de la misma.

Las composiciones farmacéuticas incluyen las adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo transdérmica, bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica) o administración a través de un implante. Las composiciones pueden prepararse mediante cualquier método bien conocido en el campo de la farmacia.

Tales métodos incluyen el paso de asociar compuestos usados en la invención o combinaciones de los mismos con cualquier agente auxiliar. El o los agentes auxiliares, también denominados ingredientes accesorios, incluyen los convencionales en la técnica como portadores, rellenos, aglutinantes, diluyentes, disgregantes, lubricantes, colorantes, aromatizantes, antioxidantes y humectantes.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración oral pueden presentarse como unidades de dosificación discretas como píldoras, comprimidos, grageas o cápsulas, o como polvo o gránulos, o como solución o suspensión. El ingrediente activo también puede presentarse en forma de bolo o pasta. Las composiciones pueden procesarse adicionalmente en un supositorio o enema para administración rectal.

La divulgación se refiere además a una composición farmacéutica, como se ha descrito anteriormente en la presente, en combinación con material de envasado, incluyendo las instrucciones para el uso de la composición para un uso como se ha descrito anteriormente en la presente.

Para la administración parenteral, las composiciones adecuadas incluyen inyección estéril acuosa y no acuosa. Las composiciones pueden presentarse en envases de dosis unitarias o multidosis, por ejemplo viales y ampollas sellados, y pueden almacenarse en un estado seco por congelación (liofilizado) que requiere solo la adición de un portador líquido estéril, por ejemplo agua, antes de su uso. Para la administración transdérmica, por ejemplo, pueden contemplarse geles, parches o aerosoles. Las composiciones o formulaciones adecuadas para la administración pulmonar, por ejemplo, por inhalación nasal, incluyen polvos finos o nebulizaciones que pueden generarse por medio de aerosoles presurizados de dosis medidas, nebulizadores o insufladores.

La dosis exacta y el régimen de administración de la composición dependerán necesariamente del efecto terapéutico o nutricional a lograr y pueden variar con la fórmula particular, la vía de administración y la edad y condición del individuo al que se va administrar la composición.

La invención se refiere a un compuesto para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma asociado con el receptor 5-HT<sub>1A</sub>; que comprende administrar a un paciente con necesidad de ello por lo menos un compuesto divulgado en la presente o anteriormente (compuestos de fórmula (I), (II) y demás).

La divulgación se refiere además a un compuesto para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma seleccionado de náuseas, vómitos, convulsiones y cualquier combinación de los mismos; que comprende administrar a un paciente con necesidad de ello por lo menos un compuesto divulgado en la presente o anteriormente (compuestos de fórmula (I), (II) y demás).

La divulgación se refiere además a un compuesto para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma asociado con la depresión; que comprende administrar a un paciente con necesidad de ello

por lo menos un compuesto divulgado la presente o anteriormente (compuestos de fórmula (I), (II) y demás).

La divulgación se refiere a un compuesto para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma seleccionado de ansiedad, estrés, depresión, esquizofrenia, pánico, síndrome de abstinencia, enfermedad autoinmune, inflamación, reducción del tamaño del infarto, aumento del flujo sanguíneo en un ataque cerebral, obesidad, síndrome metabólico, retinopatía, náuseas, lesión isquémica/por reperfusión de miocardio, hepática, renal, daño neuronal, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, infarto cerebral, encefalopatía hepática, lesión cerebral traumática, isquemia cerebral, lesión de la médula espinal, efectos de rescate de la memoria, cáncer, angiogénesis, epilepsia, convulsiones, dolor neuropático, obstrucción de las vías respiratorias, comportamiento obsesivo-compulsivo, deterioro cognitivo, impulso y función sexual alterados, trastornos del sueño, supresión respiratoria relacionada con opioides, adicción y cualquier combinación de los mismos; que comprende administrar a un paciente con necesidad de ello por lo menos un compuesto divulgado en la presente o anteriormente (compuestos de fórmula (I), (II) y demás).

La divulgación se refiere además a un compuesto para si uso en el tratamiento de por lo menos una enfermedad, afección, síntoma o trastorno asociado con la disfunción renal; que comprende administrar a un paciente con necesidad de ello por lo menos un compuesto divulgado en la presente o anteriormente (compuestos de fórmula (I), (II) y demás).

Como se usa en la presente, el término "*tratar una enfermedad, trastorno, afección o síntoma*" se refiere a una ralentización o una reversión del progreso de la enfermedad, trastorno o síntoma del mismo. El tratamiento de una enfermedad o trastorno incluye tratar un síntoma y/o reducir los síntomas de la enfermedad.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La materia considerada como la invención se señala en particular y se reivindica claramente en la parte final de la memoria descriptiva. Sin embargo, la invención, tanto en cuanto a la organización como al método de funcionamiento, junto con los objetos, las características y las ventajas de la misma, puede entenderse mejor con referencia a la siguiente descripción detallada cuando se lee junto con los dibujos acompañantes en los que:

**Figuras 1A-1E** muestran el efecto del CBDA (0,01, 0,1, 1,0, 10 o 100 nM) sobre la estimulación inducida por 8-OH-DPAT de la unión de [<sup>35</sup>S]-GTPyS a membranas obtenidas de células CHO transfectadas establemente con receptores 5-HT<sub>1A</sub> humanos. Los símbolos representan valores medios ± SEM (*n* = 6). En la Tabla 1 se enumeran los valores medios de *E*<sub>max</sub> y EC<sub>50</sub> para 8-OH-DPAT determinados en presencia de CBDA o solo de su vehículo (VEH), DMSO, junto con los límites de confianza del 95% de estos valores.

**Figuras 2A-2F** muestran el efecto de HU-580 (0,001, 0,01, 0,1, 1,0, 10 o 100 nM) sobre la estimulación inducida por 8-OH-DPAT de la unión de [<sup>35</sup>S]-GTPyS a membranas obtenidas de células CHO transfectadas establemente con receptores 5-HT<sub>1A</sub> humanos. Los símbolos representan valores medios ± SEM (*n* = 6). En la Tabla 2 se enumeran los valores medios de *E*<sub>max</sub> y EC<sub>50</sub> para 8-OH-DPAT determinados en presencia de HU-580 o solo de su vehículo (VEH), DMSO, junto con los límites de confianza del 95% de estos valores.

**Figura 3** muestra el número medio de aperturas de la boca condicionadas provocados por una solución de sacarina emparejada con LiCl entre las ratas pretratadas con varias dosis de CBDA (*n* = 8 por grupo) o HU-580 (*n* = 8 por grupo) o solo con vehículo (VEH; *n* = 8). A los grupos adicionales se les administró un pretratamiento de WAY100635 (0,1 mg·kg<sup>-1</sup>) 15 min antes de 0,1 mg·kg<sup>-1</sup> de HU-580 (*n* = 6) o VEH (*n* = 8). Los resultados se presentan como media ± SEM y \*P < 0,05, representan las respuestas medias a CBDA o HU-580, que difieren significativamente de las respuestas medias a VEH.

**Figura 4A** muestra el efecto de CBDA o HU-580 (0,01, 0,1 µg·kg<sup>-1</sup>) o vehículo (VEH) administrado i.p. 45 min antes de la prueba de náuseas anticipatorias (*n* = 6 por grupo). A grupos adicionales se les administró un pretratamiento de WAY100635 (0,1 µg·kg<sup>-1</sup>) 15 min antes de 0,1 µg·kg<sup>-1</sup> HU-580 (*n* = 8) o VEH (*n* = 8). El número medio de respuestas de aperturas de boca condicionadas se midió durante el ensayo de prueba de náuseas anticipatorias. Cada barra representa la media ± SEM. \*P < 0,05, diferencia significativa con respecto a los animales de control tratados con VEH.

**Figura 4B** muestra la distancia media (cm) recorrida medida en una prueba de actividad realizada después de la prueba de náuseas anticipatorias. Cada barra representa la media ± SEM.

**Figura 5** muestra el tiempo medio que las ratas pasan en la caja con luz, 24 h después de la exposición a descargas en las patas (No-FS) o a FS. A todas las ratas se les inyectó i.p. vehículo (VEH; *n* = 9 o 12), 0,01 µg·kg<sup>-1</sup>, CBDA (*n* = 8) o 0,01 µg·kg<sup>-1</sup> HU-580 (*n* = 8), 45 min antes de una prueba de emergencia de caja con luz-oscuridad de 5 min. A grupos adicionales se les inyectaron 0,1 mg·kg<sup>-1</sup> de WAY100635 15 min antes de VEH (*n* = 7 u 8) o 0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de HU-580 (*n* = 8). Cada barra representa la media ± SEM. \*P < 0,05, indica una diferencia significativa entre los grupos de estrés por FS y No FS.

Se apreciará que por simplicidad y claridad de la ilustración, los elementos que se muestran en las figuras no se han dibujado necesariamente a escala. Por ejemplo, las dimensiones de algunos de los elementos pueden exagerarse con respecto a otros elementos para mayor claridad. Además, cuando se considere apropiado, los números de referencia pueden repetirse entre las figuras para indicar elementos correspondientes o análogos.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA PRESENTE INVENCIÓN

En la siguiente descripción detallada, se exponen numerosos detalles específicos para proporcionar una comprensión exhaustiva de la invención. Sin embargo, los expertos en la técnica entenderán que la presente invención puede ponerse en práctica sin estos detalles específicos. En otros casos, los métodos, procedimientos y componentes bien conocidos no se han descrito en detalle para no oscurecer la presente invención.

### SÍNTESIS

10 **Síntesis de ácido cannabidiólico (CBDA):**

Se calienta una mezcla de cannabidiol (CBD, 314 mg, 1 mmol) y una solución 2 molar de carbonato de metilo y magnesio (MMC/2 M, 1,5 ml, 3 mmol) en dimetilformamida (DMF) a 130° C durante 3 horas. Luego la reacción se enfriá a 0° C, se acidifica con ácido clorhídrico al 10% y se extrae con éter. La capa orgánica se lava con solución salina, se seca sobre el agente secante sulfato de magnesio ( $MgSO_4$ ) y luego se evapora. Luego, el compuesto bruto se limpia mediante cromatografía en columna (éter-éter de petróleo al 20%).

**Síntesis del éster metílico del ácido cannabidiólico (HU-580):**

20 A una solución de ácido canabidiólico (CBDA) (175 mg, 0,488 mmol) en 2,5 ml de diclorometano ( $CH_2Cl_2$ ), se le añaden 0,02 ml de metanol ( $CH_3OH$ , 0,488 mmol) y 7,2 mg de 4-pirrolidinopiridina (0,048 mmol). La reacción se agita durante 5 minutos a temperatura ambiente seguido de la adición del agente de acoplamiento, N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) (121 mg, 0,585 mmol) y se agita durante la noche. Luego se evapora el solvente y la mezcla bruta se acidifica con ácido clorhídrico al 5% y se extrae con diclorometano ( $CH_2Cl_2$ ). La capa orgánica se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado ( $NaHCO_3$ ), se seca sobre el agente secante sulfato de magnesio ( $MgSO_4$ ) y luego se evapora. Luego, el compuesto bruto se limpia mediante cromatografía en columna (éter-éter de petróleo al 2%).

30 Los espectros de  $^1H$ -NMR se obtuvieron usando un aparato Bruker AMX de 300 MHz usando DMSO deuterado. La cromatografía en capa fina (TLC) se llevó a cabo en placas de gel de sílice 60F<sub>254</sub> (Merck). La cromatografía en columna se realizó en gel de sílice 60 Å (Merck). Los compuestos se localizaron usando una lámpara UV a 254 nm. Los análisis GCMS se realizaron en un instrumento HP GCMS (Modelo GCD PLUS) con un detector EI y una columna de metilsilicona de 30 m.

35  $^1H$  NMR (300 MHz, (( $CD_3$ )<sub>2</sub>SO)) δ 6.18 (1H, s, Ar), 5.07 (1H, s), 4.44 (1H, s), 4.41 (1H, s), 3.82 (3H, s), 3.35 (1H, m), 2.66 (1H, m), 2.49 (2H, t), 2.09 (1H, b), 1.95 (3H, s), 1.71-1.05 (12, ms), 0.86 (3H, t). GC MS = 314 m/z.

### MÉTODOS BIOLÓGICOS

40 **Procedimientos *in vitro***

45 **Células CHO.** Se mantuvieron células CHO transfectadas establemente con ADNc que codifica receptores 5-HT<sub>1A</sub> humanos (un generoso regalo del Dr. Keith Parker) a 37° C y 5% de CO<sub>2</sub> en Mezcla Nutriente F-12 de Ham Gibco™ suministrada por Fisher Scientific UK Ltd que fueron ambos suplementados con L-glutamina 2 mM, FBS al 10% y penicilina-estreptomicina al 0,6%, todos ellos también suministrados por Fisher Scientific UK Ltd, y con la sal de disulfato de G418 [(2R,3S,4R,5R,6S)-5-amino-6-{{(1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-diamino-3-{{(2R,3R,4R,5R)-3,5-dihidroxi-5-metil-4-(metilamino)oxan-2-il}oxi}2-hidroxiciclohexil}oxi}-2-[(1R)-1-hidroxietil]oxano-3,4-diol; 600 mg·ml<sup>-1</sup>] suministrado por Sigma-Aldrich UK.

50 **Ensayo de unión de [ $^{35}S$ ]-GTP $\gamma$ S.** Cada ensayo se llevó a cabo con membranas de células CHO 5-HT<sub>1A</sub> humanas (50 µg de proteína por pocillo), tampón de unión a GTP $\gamma$ S (Tris-HCl 50 mM; Tris-Base 5 mM; MgCl<sub>2</sub> 5 mM; EDTA 1 mM; NaCl 100 mM; DTT 1 mM y BSA al 0,1%), [ $^{35}S$ ]-GTP $\gamma$ S 0,1 nM y GDP 30 µM, en un volumen final de 500 µl (Cascio *et al.*, 2010). La unión se inició mediante la adición de [ $^{35}S$ ]-GTP $\gamma$ S a los pocillos. La unión no específica se midió en presencia de GTP $\gamma$ S 30 µM. Los ensayos se realizaron a 30° C durante 60 min (Cascio *et al.*, 2010). La reacción se terminó mediante un método de filtración al vacío rápido usando tampón de unión a Tris como se ha descrito anteriormente por Cascio *et al.* (2010), y la radiactividad se cuantificó por espectrometría de centelleo líquido. En todos los ensayos de unión de [ $^{35}S$ ]-GTP $\gamma$ S, se usó [ $^{35}S$ ]-GTP $\gamma$ S 0,1 nM, GDP 30 mM y una concentración de proteína de 5 µg por pocillo. Se almacenaron CBDA, HU-580, 8-OH-DPAT y WAY100635 a -20° C como soluciones madre 10 mM disueltas en DMSO.

60 **Procedimientos *in vivo***

65 **Animales.** Los procedimientos con animales cumplieron con el Consejo Canadiense de Cuidado de Animales, y los protocolos fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado de Animales de la Universidad de Guelph. Los estudios en animales se informan de conformidad con las pautas ARRIVE (Kilkenny *et al.*, 2010;

McGrath y Lilley, 2015). Se usaron un total de 200 ratas Sprague-Dawley macho sin tratar, obtenidas de Charles River Laboratories (St Constant, Quebec), para todos los estudios *in vivo*. Las ratas se alojaron individualmente (para estudios de náuseas agudas) o en parejas [para estudios de emergencia luz-oscuridad y náuseas anticipatorias] en jaulas de origen hechas de plástico blanco opaco (48 x 26 x 20 cm), que contenían lecho de mazorca de Harlan Laboratories, Inc. (Mississauga, Ontario), una toalla de papel marrón y Crinkl'Nest™ de The Andersons, Inc. (Maumee, Ohio). Además, en las jaulas de origen, se proporcionó a las ratas un recipiente de papel blanco suave que tenía 14 cm de largo y 12 cm de diámetro. Todas las ratas se sometieron a una temperatura ambiente de 21° C y un horario de luz-oscuridad de 12/12 h (luces apagadas a las 07:00 h) y se mantuvieron con comida (Highland Rat Chow [8640]) y agua a voluntad. Para los estudios de náuseas agudas y anticipatorias, sus pesos corporales variaron de 263 a 329 g el día del acondicionamiento. Para los estudios de emergencia luz-oscuridad, sus pesos corporales variaron de 320 a 387 g el día de la prueba.

**Aparato.** Para los estudios de náuseas agudas (experimento *in vivo* 1), las ratas se colocaron en cámaras de reactividad gustativa (Grill y Norgren, 1978) con su cánula conectada a una bomba de infusión (Modelo KDS100, KD Scientific, Holliston, MA, USA) para la administración de fluidos. Las cámaras de reactividad gustativa estaban hechas de plexiglás transparente (22,5 x 26 x 20 cm) que se colocaban sobre una mesa con una tapa de vidrio transparente. Un espejo debajo de la cámara en un ángulo de 45° facilitó la visualización de la superficie ventral de la rata para observar las respuestas orofaciales. La cámara de acondicionamiento estaba en un cuarto oscuro junto a una fuente de luz de 25 W. Una cámara de video (Sony DCR-HC48, Henry's Cameras, Waterloo, ON, Canadá) conectada a un ordenador se enfocó en el espejo y se usó para registrar las reacciones orofaciales de cada rata durante la prueba de reactividad gustativa de 2 minutos. Posteriormente, las cintas de video se calificaron usando el software 'The Observer' (Noldus Information Technology Inc., Leesburg, VA, USA).

Para el experimento *in vivo* 2, se midió la apertura de boca condicionada provocada contextualmente (un modelo de náusea anticipatoria) usando una cámara de acondicionamiento distintiva hecha de plexiglás negro opaco (22,5 x 26 x 20 cm) con una tapa opaca colocada sobre una mesa con una tapa de vidrio transparente. Un espejo debajo de la cámara en un ángulo de 45° facilitó la visualización de la superficie ventral de la rata para observar las respuestas orofaciales. La cámara de acondicionamiento estaba en un cuarto oscuro junto a una fuente de luz de 25 W. Una cámara de video conectada a un ordenador se enfocó en el espejo para registrar las reacciones orofaciales de cada rata durante el ensayo de prueba de 5 minutos. Posteriormente, las cintas de video se calificaron usando el software 'The Observer'. Para evaluar la actividad se usó una cámara de actividad de plexiglás blanco (60 x 25 x 25 cm), iluminada por una luz roja que se encuentra en una habitación diferente que la cámara contextual para crear un contexto diferente de la cámara AN. La actividad de cada rata fue capturada por una cámara de video y se envió al programa de software Ethovision (Noldus, Inc., NL) para medir la distancia (cm) recorrida.

Para el experimento *in vivo* 3, se evaluó la respuesta de tipo ansiolítico usando el aparato de emergencia luz-oscuridad, que consistía de una caja rectangular de plástico blanco opaco que se dividía en dos compartimentos: una caja oscura cerrada pequeña (25 cm de anchura x 20,5 cm de largo x 20,5 cm de alto) construida de plástico negro opaco con una puerta (8 cm de anchura x 10 cm de alto) que lleva a una caja iluminada abierta más grande (39,5 cm de largo x 25 cm de anchura). La caja iluminada abierta se iluminó con una lámpara (con una bombilla de 60 W, 180 lux en la cámara de luz) colocada 115 cm por encima del centro de la caja iluminada. Se montó una cámara de video sobre la caja con luz-oscuridad, y las cintas de video se analizaron con el software Ethovision (Noldus Information Technology, Leesburg, VA, USA) durante el tiempo que se pasó en la caja con luz durante la prueba de 5 min. Para la sesión de descargas en las patas (FS), las ratas se colocaron en cámaras de acondicionamiento de miedo de MED Associates atenuantes de sonido (St. Albans, VT, USA). La sesión de FS de 6 min consistió de seis descargas de 0,8 mA en los pies administradas con 1 min de diferencia. Cada descarga de 0,5 s fue precedida por un tono auditivo de 30 s (90 Db, 5000 Hz) como lo describe Bluettet *al.* (2014).

### Procedimientos *in vivo*

**Experimento *in vivo* 1: efectos relacionados con la dosis de CBDA y HU-580 sobre las náuseas agudas y la mediación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> de los efectos de HU-580.**

A todas las ratas se les implantó quirúrgicamente una cánula intraoral de acuerdo con los procedimientos descritos por Limebeer *et al.* (2010). El día de la cirugía, a las ratas se les injectó un antibiótico (Derapin: 00 mg·kg<sup>-1</sup> s.c.; Pfizer Animal Health, Pfizer Canada Inc, Kirkland, Quebec, Canadá) 30 min antes de ser anestesiadas con isoflurano (inducción al 4-5%, mantenimiento al 1,5% en O<sub>2</sub>). Se indujo anestesia en el plano quirúrgico, según lo indicado por la ausencia del reflejo de retirada de las patas traseras y definido por el Consejo Canadiense de Cuidado Animal, antes de que comenzara cualquier cirugía, y se ajustó según fue necesario. Una vez que se hubo inducido suficiente anestesia, se afeitó una sección de piel de 2 cm<sup>2</sup> en la parte posterior del cuello al nivel de la escápula. La piel se preparó limpiando con jabón (Bactistat; Ecolab, St. Paul, MN, USA) y frotando con alcohol isopropílico al 70% seguido de una solución de Betadine al 7% (Purdue Products LP, Stamford, CT, USA). Luego, a cada rata se le administró una inyección de 5 mg·kg<sup>-1</sup> (i.p.) del fármaco antiinflamatorio/analgésico carprofeno (Rimadyl; Pfizer Canada Inc., Kirkland, Quebec, Canadá). Se insertó una aguja de acero inoxidable de calibre 15 de pared delgada en el área afeitada del cuello, se dirigió subcutáneamente alrededor de la oreja y se sacó por detrás

5 del primer molar dentro de la boca. Luego, se insertó a través de la aguja un tubo Intra Medic PE90 de 10 cm de longitud (Clay Adams Brand; Becton Dickinson and Co., Sparks, MD, USA) con un diámetro interior de 0,86 mm y un diámetro exterior de 1,27 mm después de lo cual se retiró la aguja. Se aplicó Betadine (10%) en el sitio de punción y se colocaron tres discos elásticos ( $2 \text{ cm}^2$ ) sobre el extremo expuesto del tubo y se sacaron a la piel en la parte posterior del cuello con el propósito de estabilizar la cánula. La cánula se mantuvo segura en la cavidad oral mediante un disco de malla de polipropileno de 6 mm (297 micras; Small Parts Inc., Miramar, FL, USA) asegurado detrás de la abertura intraoral con reborde térmico. Luego, las ratas se devolvieron a su jaula de origen y se monitorizaron diariamente durante 3 días. Durante los 3 días siguientes a la cirugía, las ratas se pesaron y sus cánulas se enjuagaron con un enjuague bucal antiséptico. Durante este tiempo, también se monitorizó a las ratas en cuanto a actividad, vocalización, deshidratación, rigidez y presencia de tinción de porfirina alrededor de los ojos. En el primer día posquirúrgico, a las ratas también se les administró una inyección analgésica/antiinflamatoria de Rimadyl (5 mg·kg<sup>-1</sup> i.p.).

10 15 Despues de la monitorización posquirúrgica, las ratas recibieron una prueba de adaptación en la que se colocaron en la cámara de reactividad gustativa con la cánula de cada rata conectada a la bomba de infusión. Durante la adaptación, se infundió agua en sus cánulas intraorales durante 2 min a una velocidad de 1 ml·min<sup>-1</sup>. Al día siguiente del ensayo de adaptación, las ratas recibieron un ensayo de acondicionamiento en el que se les administró una inyección pretratamiento de vehículo (VEH) ( $n = 8$ ), CBDA (0,01, 0,1, 1 µg·kg<sup>-1</sup>;  $n = 8$  por grupo) o HU-580 (0,01, 0,1, 1 µg·kg<sup>-1</sup>;  $n = 8$  por grupo). Cuarenta y cinco minutos después de la inyección de pretratamiento, 20 las ratas se colocaron individualmente en la cámara y se infundieron, p.o. con solución de sacarina al 0,1% durante 2 min a razón de 1 ml·min<sup>-1</sup>. Inmediatamente después de la infusión de sacarina, a todas las ratas se les inyectaron 20 ml·kg<sup>-1</sup> de LiCl 0,15 M y se las devolvió a su jaula de origen. Setenta y dos horas más tarde, las ratas se probaron libres de drogas. A las ratas se les infundió de nuevo p.o. solución de sacarina al 0,1% durante 2 min a una velocidad de 1 ml·min<sup>-1</sup> mientras que las respuestas orofaciales se grabaron en video desde un espejo en un ángulo de 45° por debajo de las cámaras. Luego, las ratas se devolvieron a sus jaulas de origen. Se añadieron dos grupos adicionales para determinar el mecanismo de acción. A estas ratas se les inyectó WAY100635 (0,1 mg·kg<sup>-1</sup>) 15 min 25 antes de una inyección de vehículo ( $n = 8$ ) o 0,1 µg·kg<sup>-1</sup> HU-580 ( $n = 6$ ). Posteriormente, las cintas de video fueron calificadas por un observador ciego a las condiciones experimentales usando 'The Observer' para los comportamientos de apertura de boca (grandes aberturas de la boca y la mandíbula, con los incisivos inferiores expuestos). 30

*Experimento in vivo 2: efecto de CBDA y HU-580 sobre las náuseas anticipatorias y la mediación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> de los efectos de HU-580.*

35 40 Para comparar el potencial de HU-580 y CBDA para reducir las náuseas anticipatorias, se usó el paradigma de apertura de boca condicionada provocada contextualmente (por ejemplo, Limebeer *et al.*, 2010; Rock *et al.*, 2014). Las ratas se sometieron a cuatro ensayos de acondicionamiento durante los cuales el contexto distintivo se emparejó con 127 µg·kg<sup>-1</sup> de LiCl. En cada ensayo, se inyectó LiCl a las ratas y luego se colocaron inmediatamente en la cámara de acondicionamiento durante 30 min. Este procedimiento se repitió cuatro veces con un intervalo de 48 horas entre los ensayos de acondicionamiento. Para el ensayo de prueba, las ratas se asignaron aleatoriamente a uno de los cinco grupos de tratamiento ( $n = 6$  por grupo): VEH, 0,1 µg·kg<sup>-1</sup> CBDA, 0,1 µg·kg<sup>-1</sup> HU-580, 0,01 µg·kg<sup>-1</sup> CBDA, 0,01 µg·kg<sup>-1</sup> HU-580. Los pretratamientos se inyectaron 45 min antes de que las ratas recibieran una inyección de solución salina (20 mL·kg<sup>-1</sup> i.p.) y se colocaron individualmente en la cámara de acondicionamiento (contextual) durante 5 min, y se grabaron en video las respuestas orofaciales. Para investigar el mecanismo de 45 acción de HU-580, a dos grupos adicionales de ratas se les administraron 0,1 mg·kg<sup>-1</sup> de WAY-VEH ( $n = 8$ ), 0,1 mg·kg<sup>-1</sup> de WAY-0,1 µg·kg<sup>-1</sup> de HU-580 ( $n = 8$ ). El VEH o WAY100635 se administraron 15 min antes que HU-308 o VEH. Las cintas de video del ensayo de prueba fueron calificadas por un observador ciego a las condiciones experimentales usando 'The Observer' para los comportamientos de apertura de boca (aberturas grandes de la boca y la mandíbula, con los incisivos inferiores expuestos). Inmediatamente después del ensayo de prueba, las ratas se colocaron en la cámara de actividad (plexiglás blanco, 60 x 25 x 25 cm, iluminada por una luz roja) durante 15 50 minutos, y una cámara de video capturó la actividad locomotora y la envió a un ordenador usando el software EthoVision (Noldus, Inc, NL) para medir la distancia (cm) recorrida.

55 *Experimento in vivo 3: efecto de CBDA y HU-580 sobre la respuesta similar a ansiedad y la mediación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> de los efectos de HU-580.*

60 65 El efecto de CBDA y HU-580 en la respuesta similar a ansiedad se evaluó usando la prueba de emergencia de caja claro-oscuro después de un estrés por descarga en los pies o sin estrés por descarga en los pies (sin FS). Bluett *et al.* (2014) han demostrado que la respuesta similar a ansiedad en esta prueba aumenta considerablemente 24 h después del estrés por descarga en los pies. Además, Roca *et al.* (2017) han demostrado que el CBDA (en dosis tan bajas como 0,1 µg·kg<sup>-1</sup> i.p.) previene la respuesta similar a ansiedad intensificada después del estrés por descarga en los pies, mediante un mecanismo de acción dependiente de 5-HT<sub>1A</sub>. Por lo tanto, se comparó la eficacia relativa de una dosis aún más baja (0,01 µg·kg<sup>-1</sup>, i.p.) de CBDA y HU-508. Como se descubrió que HU-580 era ansiolítico a esta dosis baja, se evaluó posteriormente la capacidad del antagonista del receptor 5HT<sub>1A</sub>, WAY100635, de revertir la supresión de la respuesta similar a ansiedad por HU-580.

Todas las ratas se aclimataron a la instalación durante 13 días antes de las manipulaciones experimentales, el pesaje y la manipulación produciéndose durante ocho de estos días. Después de esta aclimatación, las ratas recibieron una única sesión de estrés por FS o una sesión de estrés sin FS 24 h antes de la prueba de emergencia luz-oscuridad (Bluett *et al.*, 2014). Para el grupo FS, las ratas se colocaron en cámaras de acondicionamiento de miedo de MED Associates atenuadoras de sonido (St. Albans, VT, USA). La sesión de FS de 6 min consistió de seis FS de 0,8 mA administradas con 1 min de diferencia. Cada descarga de 0,5 s fue precedida por un tono auditivo de 30 s (90 Db, 5000 Hz) como se describe por Bluett *et al.* (2014). El grupo de estrés sin FS permaneció en su jaula de origen durante esta sesión.

Veinticuatro horas más tarde, las ratas se sometieron a la prueba de emergencia luz-oscuridad. Las ratas del grupo FS y del grupo sin FS se pretrataron con VEH, 0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de CBDA o 0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de HU-580. Cuarenta y cinco minutos más tarde, se colocaron en la cámara oscura de la caja con luz y oscuridad y se siguió su movimiento durante una prueba de 5 minutos. Para investigar la posibilidad de que el efecto de HU-580 estuviera mediado por el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, se injectó WAY100635 a grupos adicionales, 15 min antes de VEH o 0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de HU-580. Se midió el número de segundos pasados en la caja con luz. Los grupos fueron los siguientes: Sin FS-VEH (*n* = 9), FS-VEH (*n* = 12), Sin FS-0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de CBDA (*n* = 8), FS-0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de CBDA (*n* = 8), Sin FS-0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de HU-580 (*n* = 8), FS-0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de HU-580 (*n* = 8), Sin FS-0,1 µg·kg<sup>-1</sup> de WAY-VEH (*n* = 8), FS-0,1 µg·kg<sup>-1</sup> de WAY-VEH (*n* = 7), Sin FS-0,1 µg·kg<sup>-1</sup> de WAY-0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de HU580 (*n* = 8), FS-0,1 µg·kg<sup>-1</sup> de WAY-0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de HU-580 (*n* = 8).

#### Análisis de datos *in vitro* e *in vivo*

Los valores de unión de [<sup>35</sup>S]-GTPyS estimulados por agonista neto se calcularon restando los valores de unión de referencia (obtenidos en ausencia de agonista) de los valores estimulados por agonista (obtenidos en presencia de agonista) (Cascio *et al.*, 2010). Los valores se expresan como medias y la variabilidad como SEM o como límites de confianza del 95%. Los valores medios de EC<sub>50</sub> y de efecto máximo medio (E<sub>max</sub>), y SEM o límites de confianza del 95% de estos valores, se calcularon mediante análisis de regresión no lineal usando la ecuación para una curva de concentración-respuesta sigmoidal (GraphPad Prism). Los valores de *P* < 0,05 se consideraron significativos. Los datos y el análisis estadístico cumplen con las recomendaciones sobre diseño experimental y análisis en farmacología (Curtis *et al.*, 2015).

Para el análisis de los datos del experimento de náuseas agudas (experimento *in vivo* 1), se realizó un ANOVA de un solo factor para el número medio de aperturas de la boca en la prueba de 2 minutos, y las comparaciones por pares posteriores se evaluaron con pruebas *post hoc* de diferencia mínima significativa (LSD). Para el análisis de los datos del experimento de náuseas anticipatorias (AN) (experimento *in vivo* 2), se realizó un ANOVA de un solo factor para el número de aperturas de la boca en la prueba de AN de 5 min y para la distancia total recorrida en la prueba de actividad, y las comparaciones por pares posteriores se evaluaron con pruebas *post hoc* de LSD. Para el análisis de datos del experimento de respuesta similar a ansiedad (Experimento *in vivo* 3), la cantidad de tiempo pasado en la caja con luz durante la prueba de emergencia luz-oscuridad se introdujo en un ANOVA de 2 x 5 entre factores con los factores de estrés con FS/estrés sin FS y cada pretratamiento y µg·kg<sup>-1</sup> i.p. condición de dosis (VEH, 0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de CBDA, 0,01 µg·kg<sup>-1</sup> de HU-580, WAY-VEH o WAY-HU-580). Se realizaron pruebas *t* posteriores independientes para explorar la interacción. Los niveles de significación se establecieron en *P* < 0,05.

**Materiales y fármacos usados *in vitro*.** El 8-OH-DPAT y WAY100635 fueron suministrados por Bio-Techne (Abingdon, Reino Unido). El [<sup>35</sup>S]-GTPyS (1250 Ci mmol<sup>-1</sup>) se adquirió de PerkinElmer Life Sciences, Inc. (Boston, MA, USA), y GTPyS, GDP y DMSO de Sigma-Aldrich UK. El CBDA y su éster metílico (HU-580) fueron proporcionados por Raphael Mechoulam.

**Fármacos usados *in vivo*.** Se preparó cloruro de litio (LiCl; Sigma Aldrich) en una solución 0,15 M con agua estéril y se administró i.p. a un volumen de 20 ml·kg<sup>-1</sup> (dosis de 127,2 mg·kg<sup>-1</sup>). El CBDA y su éster metílico (HU-580), ambos proporcionados por Raphael Mechoulam, se disolvieron en un tubo graduado de vidrio en 1 ml de etanol con 1 ml de Tween80 (Sigma) añadido a la solución y el etanol se evaporó con una corriente de nitrógeno, después de lo cual se añadieron 9 ml de solución salina (relación final de Tween80: solución salina = 1:9). Se administró CBDA o HU-580 a ratas i.p. a dosis de 0,01, 0,1 o 1,0 µg·kg<sup>-1</sup>, en un volumen de 1 ml·kg<sup>-1</sup>, usando una solución madre que contenía uno u otro de estos compuestos a una concentración de 0,01, 0,1 o 1,0 µg·ml<sup>-1</sup> respectivamente. El WAY100635 (Sigma, St Louis, MO, USA) se disolvió en solución salina a una concentración de 0,1 mg·ml<sup>-1</sup> y se administró a ratas i.p. a una dosis de 0,1 mg·kg<sup>-1</sup> (1 ml·kg<sup>-1</sup>).

#### RESULTADOS

*CBDA y HU-580 mejoran la capacidad de un agonista del receptor 5-HT<sub>1A</sub> para estimular la unión de [<sup>35</sup>S]-GTPyS a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> humanos *in vitro**

Como se ha descubierto anteriormente en experimentos de unión de [<sup>35</sup>S]GTPyS realizados con membranas de tronco cerebral de rata (Bolognini *et al.*, 2013), el CBDA mejoró la estimulación de la unión de [<sup>35</sup>S]-GTPyS inducida por el agonista selectivo del receptor 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, a membranas obtenidas de células CHO transfectadas establemente con receptores 5-HT<sub>1A</sub> humanos (Figura 1A-1E y Tabla 1). Concentraciones de CBDA en el rango submicromolar, produciendo aumentos significativos en la  $E_{max}$  media de 8-OH-DPAT a 0,1, 1,0 y 10 nM, pero no a 0,01 o 100 nM. Ninguno de estos aumentos en la  $E_{max}$  media estuvo acompañado de ningún cambio significativo en la EC<sub>50</sub> media de 8-OH-DPAT ( $P > 0,05$ ; Tabla 1). El éster metílico de CBDA, HU-580, fue incluso más potente que CBDA para mejorar la estimulación inducida por 8-OH-DPAT de la unión de [<sup>35</sup>S]-GTPyS a las membranas de células CHO que expresan el receptor 5-HT<sub>1A</sub> humano (Figura 2A-2F y Tabla 2). Por tanto, produjo un aumento significativo en la  $E_{max}$  media de 8-OH-DPAT no solo a 0,1, 1,0 y 10 nM (como CBDA) sino también a 0,01 nM (a diferencia de CBDA). HU-580 no aumentó la  $E_{max}$  media de 8-OH-DPAT a 100 nM (como CBDA) o a 0,001 nM y no afectó significativamente a la EC<sub>50</sub> media de 8-OH-DPAT a ninguna de las concentraciones investigadas (Tabla 2). Cuando se administró por sí mismo, a concentraciones de 0,01, 0,1, 1, 10 o 100 nM, HU-580 no se comportó como un agonista o agonista inverso del receptor 5-HT<sub>1A</sub> como lo indica la falta de un efecto detectable de cualquiera de estas concentraciones sobre la unión de [<sup>35</sup>S]-GTPyS a membranas obtenidas a partir de células CHO transfectadas con receptor 5-HT<sub>1A</sub> humano ( $n = 6$ ; datos no mostrados).

**Tabla 1:** Efectos de varias concentraciones de CBDA sobre los valores medios de EC<sub>50</sub> y  $E_{max}$  de 8-OH-DPAT para su estimulación de la unión de [<sup>35</sup>S]-GTPyS a membranas obtenidas de células CHO transfectadas establemente con receptores 5-HT<sub>1A</sub> humanos (Ver también Figuras 1A-1E)

Pretratamiento	EC <sub>50</sub> media (nM)	Límites de confianza del 95% (nM)	$E_{max}$ media (%)	Límites de confianza del 95% (%)	n
<b>Vehículo</b>	17,48	10,14 y 30,12	97,69	88,57 y 106,8	6
<b>CBDA 0,01 nM (Figura 1A)</b>	22,66	10,32 y 49,46	95,64	83,23 y 108,1	6
<b>Vehículo</b>	10,77	5,74 y 20,21	98,67	88,26 y 109,1	6
<b>CBDA 0,1 nM (Figura 1B)</b>	11,19	8,18 y 15,29	115,3*	109,6 y 120,9	6
<b>Vehículo</b>	15,52	7,51 y 32,08	96,56	84,51 y 108,6	6
<b>CBDA 1,0 nM (Figura 1C)</b>	72,81	31,86 y 166,4	167,1*	138,3 y 195,9	6
<b>Vehículo</b>	16,77	8,58 y 32,80	101,7	89,55 y 113,9	6
<b>CBDA 10 nM (Figura 1D)</b>	57,44	23,55 y 140,1	143,9*	118,4 y 169,4	6
<b>Vehículo</b>	20,00	11,46 y 34,88	108,6	98,03 y 119,1	6
<b>CBDA 100 nM (Figura 1E)</b>	22,86	10,73 y 48,70	109,0	96,14 y 121,9	6

Cada asterisco indica una diferencia significativa (\* $P < 0,05$ ) entre un valor medio de  $E_{max}$  de 8-OH-DPAT determinado en presencia de una concentración particular de CBDA y el valor medio de  $E_{max}$  de 8-OH-DPAT que se muestra en la fila anterior, que se determinó en el mismo experimento en presencia de vehículo (DMSO) en lugar de CBDA. Las diferencias significativas se indican mediante límites de confianza del 95% que no se superponen.

**Tabla 2:** Efectos de varias concentraciones de HU-580 sobre los valores medios de EC<sub>50</sub> y  $E_{max}$  de 8-OH-DPAT para su estimulación de la unión de [<sup>35</sup>S]-GTPyS a membranas obtenidas de células CHO transfectadas establemente con receptores 5-HT<sub>1A</sub> humanos (ver también las Figuras 2A-2F)

Pretratamiento	EC <sub>50</sub> media (nM)	Límites de confianza del 95% (nM)	$E_{max}$ media (%)	Límites de confianza del 95% (%)	n
<b>Vehículo</b>	18,05	10,73 y 30,38	102,4	93,21 y 111,7	6
<b>0,001 nM HU-580 (Figura 2A)</b>	14,44	9,37 y 22,25	99,80	98,33 y 106,3	6
<b>Vehículo</b>	15,49	7,84 y 30,59	96,25	85,34 y 107,2	6
<b>0,01 nM HU-580 (Figura 2B)</b>	34,15	18,58 y 62,77	126,9*	113,5 y 140,3	6
<b>Vehículo</b>	18,69	9,74 y 35,83	97,62	86,22 y 109,0	6
<b>0,1 nM HU-580 (Figura 2C)</b>	12,94	6,88 y 24,34	125,3*	113,0 y 137,6	6
<b>Vehículo</b>	19,75	11,44 y 34,12	108,4	98,0 y 118,7	6
<b>1,0 nM HU-580 (Figura 2D)</b>	48,22	31,31 y 74,26	140,5*	128,7 y 152,4	6

(continuación)

Pretratamiento	$E_{50}$ media (nM)	Límites de confianza del 95% (nM)	$E_{max}$ media (%)	Límites de confianza del 95% (%)	n
Vehículo	14,58	6,83 y 31,15	99,36	86,58 y 112,1	6
HU-580 10 nM (Figura 2E)	23,94	8,82 y 64,97	138,8*	115,7 y 161,9	6
Vehículo	19,89	11,78 y 33,58	101,6	92,04 y 111,1	6
100 nM HU-580 (Figura 2F)	8,49	1,87 y 38,59	91,96	71,6 y 112,3	6

5 Cada asterisco indica una diferencia significativa (\* $P < 0,05$ ) entre un valor medio de  $E_{max}$  de 8-OH-DPAT determinado en presencia de una concentración particular de HU-580 y el valor medio de  $E_{max}$  de 8-OH-DPAT mostrado en la fila anterior, que se determinó en el mismo experimento en presencia de vehículo (DMSO) en lugar de HU-580. Las diferencias significativas se indican mediante límites de confianza del 95% que no se superponen.

10 *Experimento in vivo 1: efectos relacionados con la dosis de CBDA y HU-580 sobre las náuseas agudas y la mediación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> de los efectos de HU-580*

20 A una dosis de 0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , pero no a 0,01 ni a 1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , HU-580 fue más eficaz que CBDA para reducir las náuseas agudas según se evaluó mediante el modelo de apertura de boca de rata. El efecto supresor de HU-580 sobre las náuseas agudas (0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) fue bloqueado por WAY100635. Un ANOVA de factor único reveló un efecto de grupo significativo  $F(8, 61) = 3,9$ ;  $P < 0,05$ . La Figura 3 presenta el número medio de aperturas de boca mostradas por los varios grupos de pretratamiento. Las pruebas de comparación *post hoc* de LSD posteriores revelaron que ambos compuestos redujeron las respuestas abiertas inducidas por LiCl con respecto al vehículo a una dosis de 1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ( $P < 0,05$ ), replicando nuestros descubrimientos anteriores (Limebeer *et al.*, 2010; Rock y Parker, 2013). Sin embargo, incluso a la dosis más baja de 0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , es decir, el subumbral para una reducción del comportamiento similar a náuseas inducido por CBDA, HU-580 redujo el comportamiento de apertura de boca condicionado inducido por LiCl con respecto al vehículo ( $P < 0,05$ ). Las ratas pretratadas con HU-580 (0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) también abrieron la boca significativamente menos que el grupo de WAY-0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  HU-580 ( $P < 0,05$ ), lo que indica un efecto mediado por el receptor 5-HT<sub>1A</sub>.

25 *Experimento in vivo 2: efecto de CBDA y HU-580 sobre las náuseas anticipatorias y la mediación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> de los efectos de HU-580*

30 A una dosis extremadamente baja de 0,01  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , pero no a 0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , HU-580 fue más eficaz que CBDA para reducir las náuseas anticipatorias según se evaluó por el modelo de apertura de boca condicionada provocada contextualmente. El efecto supresor de HU-580 (0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) se bloqueó mediante pretratamiento con WAY100635. Un ANOVA de factor único reveló un efecto de grupo significativo  $F(6, 39) = 8,7$ ;  $p < 0,05$ . La Figura 4A presenta el número medio de aperturas de boca mostradas. Las comparaciones posteriores *post hoc* de LSD revelaron que, en comparación con los controles de VEH, a una dosis de 0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , tanto el CBDA como el HU-580 redujeron las aperturas de boca condicionadas (valores de  $P < 0,05$ ); sin embargo, los grupos difirieron a una dosis de 0,01  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , con el grupo de HU-580 con aperturas de boca significativamente menores que los controles de VEH ( $P < 0,05$ ) y el grupo de 0,01 de CBDA ( $P = 0,05$ ). Las ratas pretratadas con HU-580 (0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) también abrieron la boca significativamente menos que el grupo de WAY-0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de HU-580 ( $P < 0,05$ ), lo que indica un efecto mediado por el receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Un ANOVA de factor único para la prueba de actividad locomotora (Figura 4B) no reveló ningún efecto significativo sobre la distancia recorrida,  $F(6, 39) = 0,9$ ,  $P > 0,05$ .

35 *Experimento in vivo 3: efectos ansiolíticos de CBDA y HU-580*

40 La Figura 5 presenta el número medio de segundos que las ratas pasan en la caja con luz para cada uno de los varios grupos de pretratamiento que recibieron FS o sin FS 24 h antes de la prueba de luz-oscuridad. Como puede verse, el estrés por FS mejoró en gran medida la respuesta similar a ansiedad de la disminución del tiempo pasado en la caja con luz. A una dosis baja de 0,01  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , HU-580, pero no CBDA, revirtió el efecto de FS en la respuesta similar a ansiedad de la disminución del tiempo pasado en la caja con luz. El ANOVA de 2x5 para el número de segundos pasados en la caja con luz reveló un efecto principal significativo del estrés por FS,  $F(1, 84) = 25,6$ ;  $P < 0,05$ , y una interacción de estrés por FS x pretratamiento,  $F(4, 84) = 3,2$ ;  $P, 0,05$ . Para analizar la interacción, las pruebas *t* independientes posteriores revelaron que las ratas pretratadas con VEH ( $P < 0,05$ ), 0,01  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de CBDA ( $P < 0,05$ ), WAY-VEH ( $P < 0,05$ ) o WAY-0,01  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de HU-580 ( $P = 0,05$ ) pasaron menos tiempo en la caja con luz después del estrés por FS que después del estrés sin FS, pero las ratas pretratadas con 0,01  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de HU-580 no mostraron esta respuesta similar a la ansiogénica. Además, los posteriores de un solo factor ANOVA del tiempo pasado en la caja con luz revelaron un efecto de pretratamiento significativo entre los grupos de FS,  $F (4, 38) = 4,6$ ;  $P < 0,05$ , pero no entre los grupos sin FS. Entre los grupos de FS, las pruebas posteriores de Bonferroni revelaron que solo el grupo 0,01  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de HU-580 pasó significativamente más tiempo en la caja con luz que el grupo de VEH ( $P < 0,05$ ).

## Análisis

Los resultados obtenidos confirmaron que el CBDA muestra una potencia significativa tanto para producir un aumento aparente de la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, por el agonista directo del receptor 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, *in vitro*, como para producir una reducción mediada por el receptor 5-HT<sub>1A</sub> de tanto las náuseas agudas como anticipatorias en ratas, *in vivo*.

Los nuevos datos *in vitro* muestran, en primer lugar, que el CBDA puede mejorar la activación no solo de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> del tronco cerebral de rata (Bolognini et al., 2013), sino también de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> humanos y, en segundo lugar, que tanto los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en el tronco cerebral de rata como en humanos, el CBDA induce dicha mejora con una curva de respuesta a la concentración en forma de campana en el rango submicromolar. Los datos *in vitro* descritos en la presente también revelan una similitud importante entre los efectos farmacológicos de CBDA y su éster metílico, HU-580. Más específicamente, estos datos han proporcionado evidencias convincentes de que HU-580 comparte la capacidad de CBDA para producir una mejora aparente de la activación de receptores 5-HT<sub>1A</sub> humanos por 8-OH-DPAT en el ensayo de unión de [<sup>35</sup>S]-GTPyS. Es importante destacar que HU-580 produjo dicha mejora tanto con mayor potencia como con una curva de respuesta a la concentración en forma de campana aún más amplia que CBDA. Por tanto, HU-580 indujo una mejora significativa a concentraciones de 0,01 a 10 nM (Tabla 2) y CBDA a concentraciones de 0,1 a 10 nM (Tabla 1). Mientras que, a concentraciones de 1, 10 y 100 nM, HU-580 produjo una mejora ligeramente menor de la activación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> inducida por 8-OH-DPAT que CBDA, HU-580 produjo una mejora ligeramente mayor de esta activación que CBDA, a concentraciones de 0,01 y 0,1 nM (Tablas 1 y 2).

Cabe destacar que ninguna de las concentraciones de CBDA y HU-580 que aumentaron significativamente los valores de E<sub>max</sub> de 8-OH-DPAT para su estimulación de la unión de [<sup>35</sup>S]-GTPyS a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> produjo ningún cambio significativo en la EC<sub>50</sub> de 8-OH-DPAT (Tablas 1 y 2). Este descubrimiento muestra que CBDA y HU-580 pueden haber estado actuando como moduladores alostéricos positivos de la activación de estos receptores por 8-OH-DPAT, habiendo evidencias de que algunos moduladores alostéricos positivos sí aumentan los valores de E<sub>max</sub> pero no las potencias de agonistas en ciertos receptores (Christopoulos et al., 2014). Existe la posibilidad de que CBDA y HU-580 se dirijan a un sitio alostérico en el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, como moduladores alostéricos positivos. También cabe destacar que los datos positivos *in vitro* para CBDA y HU-580 que se obtuvieron en la presente provienen todos de experimentos realizados con células CHO transfectadas con receptores 5-HT<sub>1A</sub> humanos.

Los datos *in vivo* revelan similitudes entre los efectos farmacológicos de HU-580 y CBDA. Por tanto, estos datos muestran que la capacidad de CBDA para reducir las náuseas agudas y anticipatorias en ratas se extiende a HU-580. Es importante destacar que, como también se descubrió en nuestros experimentos *in vitro*, HU-580 mostró una potencia aún mayor que CBDA. Más específicamente, la supresión efectiva de la apertura de boca condicionada inducida por náuseas agudas fue inducida por HU-580 a una dosis tan baja como 0,1 µg·kg<sup>-1</sup> i.p., mientras que la dosis eficaz más baja de CBDA para la producción de dicha supresión fue de 1 µg·kg<sup>-1</sup> i.p. (Figura 3). De hecho, se descubrió que a una dosis tan baja como 0,01 µg·kg<sup>-1</sup> i.p., HU-580, pero no CBDA, suprimió la apertura de boca condicionada provocada contextualmente. También se demostró que el antagonista selectivo del receptor 5-HT<sub>1A</sub>, WAY100635, puede prevenir completamente la supresión de la apertura de boca inducida por LiCl y la apertura de boca condicionada provocada contextualmente por HU-580. Finalmente, aunque recientemente se ha descubierto que el CBDA reduce la mejora por FS del comportamiento de tipo ansiogénico en la prueba de emergencia de la caja con luz-oscuridad a dosis de 0,1, 1 y 100 µg·kg<sup>-1</sup> i.p. (Rock et al., 2017), se demostró en la presente que no compartía la capacidad de HU-580 para reducir la mejora por FS del comportamiento ansiogénico en la prueba de emergencia de luz-oscuridad a la dosis más baja de 0,01 µg·kg<sup>-1</sup> i.p., lo que sugiere que HU-580 puede ser incluso más potente que CBDA para reducir la ansiedad inducida por el estrés. Además, también se demostró que HU-580 tiene la capacidad de reducir la mejora por FS del comportamiento de tipo ansiogénico mediado por el receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Los resultados muestran que HU-580 es más estable que CBDA y más potente que CBDA (náuseas agudas y anticipatorias).

Idealmente, los fármacos usados como medicamentos deberían, cuando se almacenan, mostrar estabilidad durante un período de tiempo razonable. Por lo tanto, como el CBDA almacenado sufre una descomposición significativa, incluso a 4º C, un objetivo principal de este proyecto fue desarrollar un compuesto que no produjese menos potencia que el CBDA en los ensayos descritos en la presente, sino que se muestre mucho más estable durante un período razonable de tiempo cuando se almacena a esta temperatura. Por lo tanto, cabe destacar que los inventores han descubierto que HU-580 es, de hecho, más estable que CBDA cuando se almacena a 4º C durante 21 días. Además, el descubrimiento que demuestra que HU-580 es más potente que CBDA tanto *in vitro* como *in vivo* apoya la hipótesis de que los efectos farmacológicos producidos por HU-580 en nuestros experimentos no dependían de su descomposición o metabolismo a CBDA.

En conclusión, la evidencia muestra que HU-580 muestra una mayor potencia que el CBDA para suprimir los signos de náuseas tanto agudas como anticipatorias y de ansiedad inducida por el estrés en ratas, y que produce estos efectos de una manera dependiente del receptor de 5-HT<sub>1A</sub>.

## Referencias

- Alexander SPH, Christopoulos A, Davenport AP, Kelly E, Marrion NV, Peters JA et al. (2017). THE CONCISE GUIDE TO PHARMACOLOGY 2017/18: G protein-coupled receptors. *Br J Pharmacol* 174: S17-S129.
- Bluett RJ, Gamble-George JC, Hermanson DJ, Hartley ND, Marnett LJ, Patel S (2014). Central anandamide deficiency predicts stress-induced anxiety: behavioral reversal through endocannabinoid augmentation. *Transl Psychiatry* 4: e408. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.53>.
- Bolognini D, Rock EM, Cluny NL, Cascio MG, Limebeer CL, Duncan M et al. (2013). Cannabidiolic acid prevents vomiting in *Suncus murinus* and nausea-induced behaviour in rats by enhancing 5-HT1A receptor activation. *Br J Pharmacol* 168: 1456-1470.
- Campos AC, Guimarães FS (2008). Involvement of 5HT1A receptors in the anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. *Psychopharmacology (Berl)* 199: 223-230.
- Cascio MG, Pertwee RG (2014). Known pharmacological actions of nine non-psychotropic phytocannabinoids. In: Pertwee RG (ed). *Handbook of Cannabis*. Oxford University Press: Oxford, pp. 137-156.
- Cascio MG, Gauson LA, Stevenson LA, Ross RA, Pertwee RG (2010). Evidence that the plant cannabinoid cannabigerol is a highly potent α2-adrenoceptor agonist and moderately potent 5HT1A receptor antagonist. *Br J Pharmacol* 159: 129-141.
- Christopoulos A, Changeux J-P, Catterall WA, Fabbro D, Burris TP, Cidlowski JA et al. (2014). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XC. Multisite pharmacology: recommendations for the nomenclature of receptor allosterism and allosteric ligands. *Pharmacol Rev* 66: 918-947.
- Crombie L, Crombie WML (1977). Cannabinoid acids and esters: miniaturized synthesis and chromatographic study. *Phytochemistry* 16: 1413-1420.
- Curtis MJ, Bond RA, Spina D, Ahluwalia A, Alexander SP, Giembycz MA et al. (2015). Experimental design and analysis and their reporting: new guidance for publication in BJP. *Br J Pharmacol* 172: 3461-3471.
- Grill HJ, Norgren R (1978). Chronically decerebrate rats demonstrate satiation but not bait shyness. *Science* 201: 267-269.
- Kilkenny C, Browne W, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG (2010). NC3Rs Reporting Guidelines Working Group. *Br J Pharmacol* 160: 1577-1579.
- Krejčí Z, Šantavý F (1955). Isolace dalsích látek z listů indického konopí *Cannabis sativa* L. *Acta Univ Palacki Olomuc* 6: 59-66.
- Laprairie RB, Bagher AM, Kelly ME, Denovan-Wright EM (2015). Cannabidiol is a negative allosteric modulator of the cannabinoid CB1 receptor. *Br J Pharmacol* 172: 4790-4805.
- Limebeer CL, Vemuri VK, Bedard H, Lang ST, Ossenkopp KP, Makriyannis A et al. (2010). Inverse agonism of cannabinoid CB1 receptors potentiates LiCl-induced nausea in the conditioned gaping model in rats. *Br J Pharmacol* 161: 336-349.
- McGrath JC, Lilley E (2015). Implementing guidelines on reporting research using animals (ARRIVE etc.): new requirements for publication in BJP. *Br J Pharmacol* 172: 3189-3193.
- Mechoulam R (1973). Cannabinoid chemistry. In: *Marijuana Chemistry, Metabolism, Pharmacology and Clinical Effects*. Ed Mechoulam R Academic Press: New York, pp. 1-99.
- Mechoulam R, Ben-Zvi Z (1969). Carboxylation of resorcinols and methyl magnesium carbonate. Synthesis of cannabinoid acids. *J Chem Soc D - Chem Commun Issue* 7: 343-344.
- Mechoulam R, Gaoni Y (1965). Hashish - IV. The isolation and structure of cannabinolic, cannabidiolic and cannabigerolic acids. *Tetrahedron* 21: 1223-1229.
- Mechoulam R, Parker LA, Gallily R (2002). Cannabidiol: an overview of some pharmacological aspects. *J Clin Pharmacol* 42: 11S-19S.

- Norman ROC, Coxon JM (1993). Principles of organic synthesis. Blackie Academic: London, p. 389.
- 5 Patel S, Hill MN, Cheer JF, Wotjak CT, Holmes A (2017). The endocannabinoid system as a target for novel anxiolytic drugs. *Neurosci Biobehav Rev* 76: 56-66.
- Rock EM, Bolognini D, Limebeer CL, Cascio MG, Anavi-Goffer S, Fletcher PJ et al. (2012). Cannabidiol, a non-psychotropic component of cannabis, attenuates vomiting and nausea-like behaviour via indirect agonism of 5-HT1A somatodendritic autoreceptors in the dorsal raphe nucleus. *Br J Pharmacol* 165: 2620-2634.
- 10 Rock EM, Parker LA (2013). Effect of low doses of cannabidiolic acid and ondansetron on LiCl-induced conditioned gaping (a model of nausea-induced behaviour) in rats. *Br J Pharmacol* 169: 685-692.
- 15 Rock EM, Parker LA (2015). Synergy between cannabidiol, cannabidiolic acid, and Δ9-tetrahydrocannabinol in the regulation of emesis in the *Suncus murinus* (house musk shrew). *Behav Neurosci* 129: 368-370.
- 20 Rock EM, Limebeer CL, Navaratnam R, Sticht MA, Bonner N, Engeland K et al. (2014). A comparison of cannabidiolic acid with other treatments for anticipatory nausea using a rat model of contextually elicited conditioned gaping. *Psychopharmacology (Berl)* 231: 3207-3215.
- 25 Rock EM, Limebeer CL, Parker LA (2015). Effect of combined doses of Δ9-tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiolic acid (CBDA) on acute and anticipatory nausea using rat (Sprague-Dawley) models of conditioned gaping. *Psychopharmacology (Berl)* 232: 4445-4454.
- 30 Rock EM, Connolly C, Limebeer CL, Parker LA (2016). Effect of combined oral doses of Δ9-tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiolic acid (CBDA) on acute and anticipatory nausea in rat models. *Psychopharmacology (Berl)* 233: 3353-3360.
- 35 Rock EM, Limebeer CL, Petrie GN, Williams LA, Mechoulam R, Parker LA (2017). Effect of prior foot shock stress and Δ9-tetrahydrocannabinol, cannabidiolic acid, and cannabidiol on anxiety-like responding in the light-dark emergence test in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 234: 2207-2217.
- Southan C, Sharman JL, Benson HE, Faccenda E, Pawson AJ, Alexander SPH et al. (2016). The IUPHAR/BPS guide to PHARMACOLOGY in 2016: towards curated quantitative interactions between 1300 protein targets and 6000 ligands. *Nucl Acids Res* 44: D1054-D1068.
- 40 Takeda S, Okazaki H, Ikeda E, Abe S, Yoshioka Y, Watanabe K et al. (2014). Down-regulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) by cannabidiolic acid in human breast cancer cells. *J Toxicol Sci* 39: 711-716.
- Takeda S, Himeno T, Kakizoe K, Okazaki H, Okada T, Watanabe K et al. (2017). Cannabidiolic acid-mediated selective down-regulation of c-fos in highly aggressive breast cancer MDA-MB-231 cells: possible involvement of its down-regulation in the abrogation of aggressiveness. *J Nat Med* 71: 286-291.
- 45 Zhornitsky S, Potvin S (2012). Cannabidiol in humans - the quest for therapeutic targets. *Pharmaceuticals* 21: 529-552.
- Zuardi AW, Cosme RA, Graeff FG, Guimarães FS (1993). Effect of ipsapirone and cannabidiol on human experimental anxiety. *J Psychopharmacol* 7: 82-88.

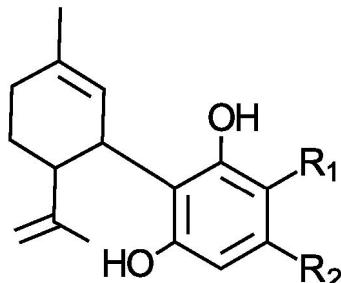
## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma asociado con el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, dicho compuesto teniendo la fórmula general (I):

5

10

15



(I)

20 en donde

R<sub>1</sub> se selecciona de -C(=O)OR<sub>3</sub>, -OC(=O)R<sub>4</sub>;

R<sub>2</sub> se selecciona de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado y alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado; cada uno opcionalmente independientemente sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado de hidroxi, halógeno, amina y amida o cualquier combinación de los mismos;

R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan cada uno independientemente de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, halógeno, amina y amida.

30 en donde la afección, enfermedad o síntoma se selecciona de ansiedad, estrés, depresión, esquizofrenia, pánico, síndrome de abstinencia, enfermedad autoinmune, inflamación, obesidad, síndrome metabólico, retinopatía, náuseas, vómitos, disfunción renal, isquemia/lesión por reperfusión renal, daño neuronal, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, infarto cerebral, encefalopatía hepática, lesión cerebral traumática, isquemia cerebral, lesión de la médula espinal, angiogénesis, epilepsia, convulsiones, dolor neuropático, obstrucción de las vías respiratorias, comportamiento obsesivo-compulsivo, deterioro cognitivo, deseo y función sexual deteriorados, alteración del sueño, supresión respiratoria relacionada con opioides, adicción y cualquier combinación de los mismos.

40 2. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la afección, enfermedad o síntoma se selecciona de náuseas, vómitos, convulsiones y cualquier combinación de los mismos.

3. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la afección, enfermedad o síntoma está asociado con depresión.

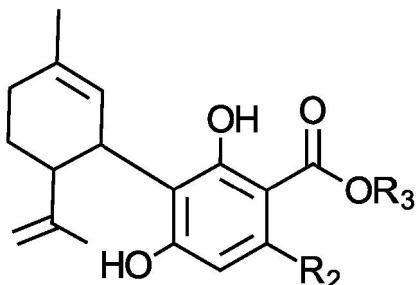
45 4. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la enfermedad, afección, síntoma o trastorno está asociado con disfunción renal.

5. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el compuesto es un compuesto que tiene la fórmula general (II):

50

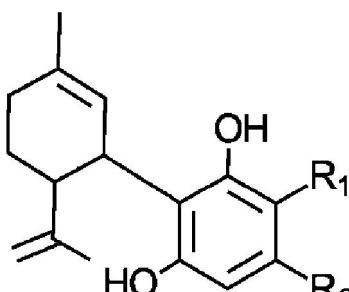
55

60



(II)

65 en donde

- 5      R<sub>2</sub> se selecciona de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado y alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado; cada uno independientemente opcionalmente sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado de hidroxi, halógeno, amina y amida o cualquier combinación de los mismos;
- 10     R<sub>3</sub> se selecciona de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, halógeno, amina y amida.
- 15     6. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde R<sub>2</sub> es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado.
- 20     7. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde R<sub>2</sub> es un alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado.
- 25     8. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde R<sub>2</sub> es un alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado o un alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado.
- 30     9. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde R<sub>3</sub> es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado.
- 35     10. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde R<sub>3</sub> es un alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado.
- 40     11. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde R<sub>3</sub> es un alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado o un alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado.
- 45     12. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde R<sub>3</sub> se selecciona de un halógeno, una amina y una amida.
- 50     13. Una composición que comprende por lo menos un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, para su uso en el tratamiento de una afección, enfermedad o síntoma asociado con el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, en donde la afección, enfermedad o síntoma se selecciona de ansiedad, estrés, depresión, esquizofrenia, pánico, síndrome de abstinencia, enfermedad autoinmune, inflamación, obesidad, síndrome metabólico, retinopatía, náuseas, vómitos, disfunción renal, isquemia/lesión por reperfusión renal, daño neuronal, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, infarto cerebral, encefalopatía hepática, lesión cerebral traumática, isquemia cerebral, lesión de la médula espinal, angiogénesis, epilepsia, convulsiones, dolor neuropático, obstrucción de las vías respiratorias, comportamiento obsesivo-compulsivo, deterioro cognitivo, impulso y función sexual deteriorados, trastornos del sueño, supresión respiratoria relacionada con opioides, adicción y cualquier combinación de los mismos.
- 55     14. Un compuesto que tiene la fórmula general (I):
- 60     
- 65     (I)
- 70     en donde
- 75     R<sub>1</sub> se selecciona de -C(=O)OR<sub>3</sub>, -OC(=O)R<sub>4</sub>;
- 80     R<sub>2</sub> se selecciona de un alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado o alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado; cada uno independientemente opcionalmente sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado de hidroxi, halógeno, amina y amida o cualquier combinación de los mismos;
- 85     R<sub>3</sub> se selecciona de un alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, halógeno, amina y amida; y
- 90     R<sub>4</sub> se selecciona de un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alqueninilo C<sub>4</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>

# ES 2 909 350 T3

lineal o ramificado y alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> lineal o ramificado, halógeno, amina y amida.

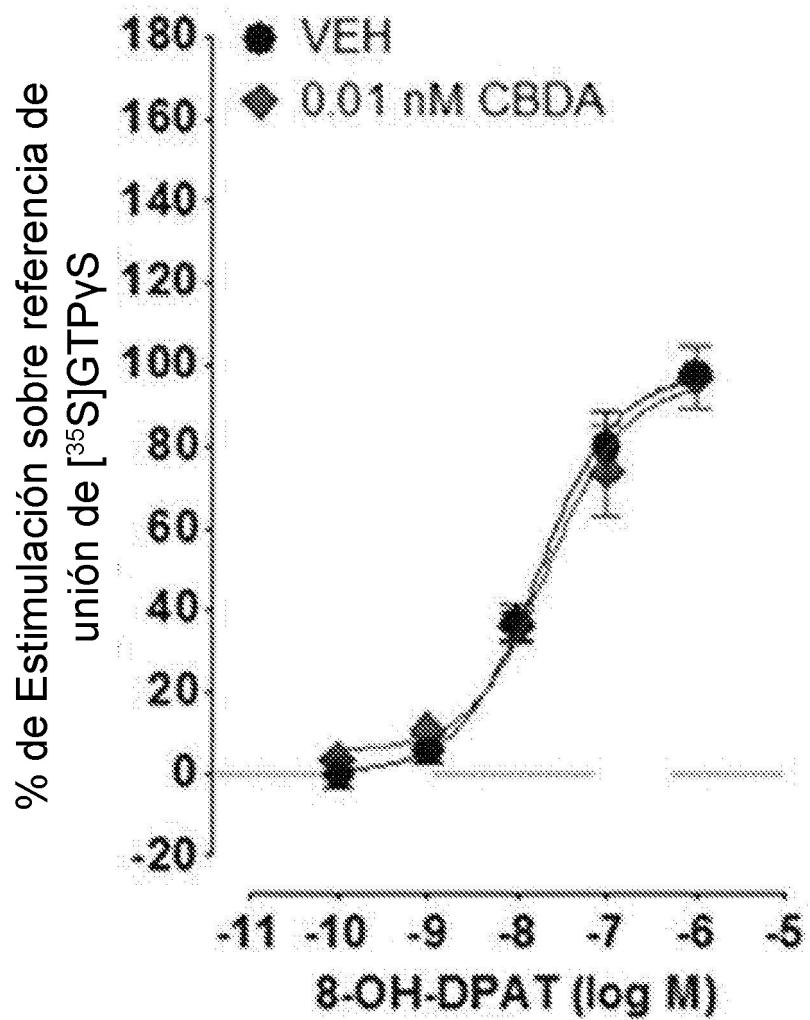


Figura 1A

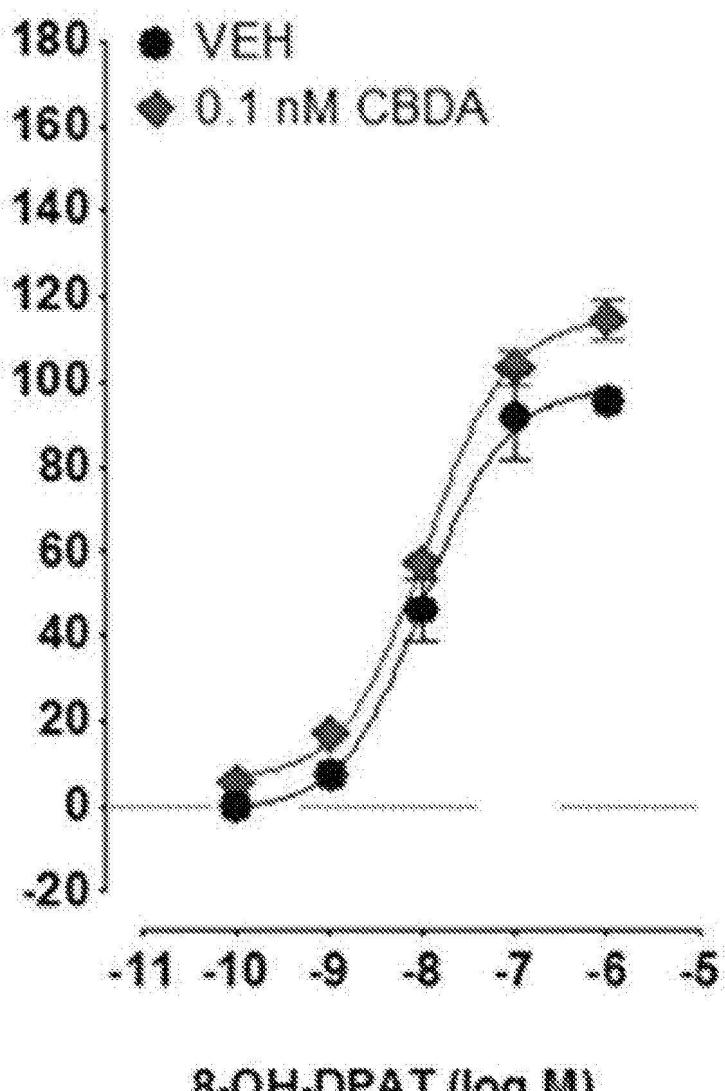


Figura 1B

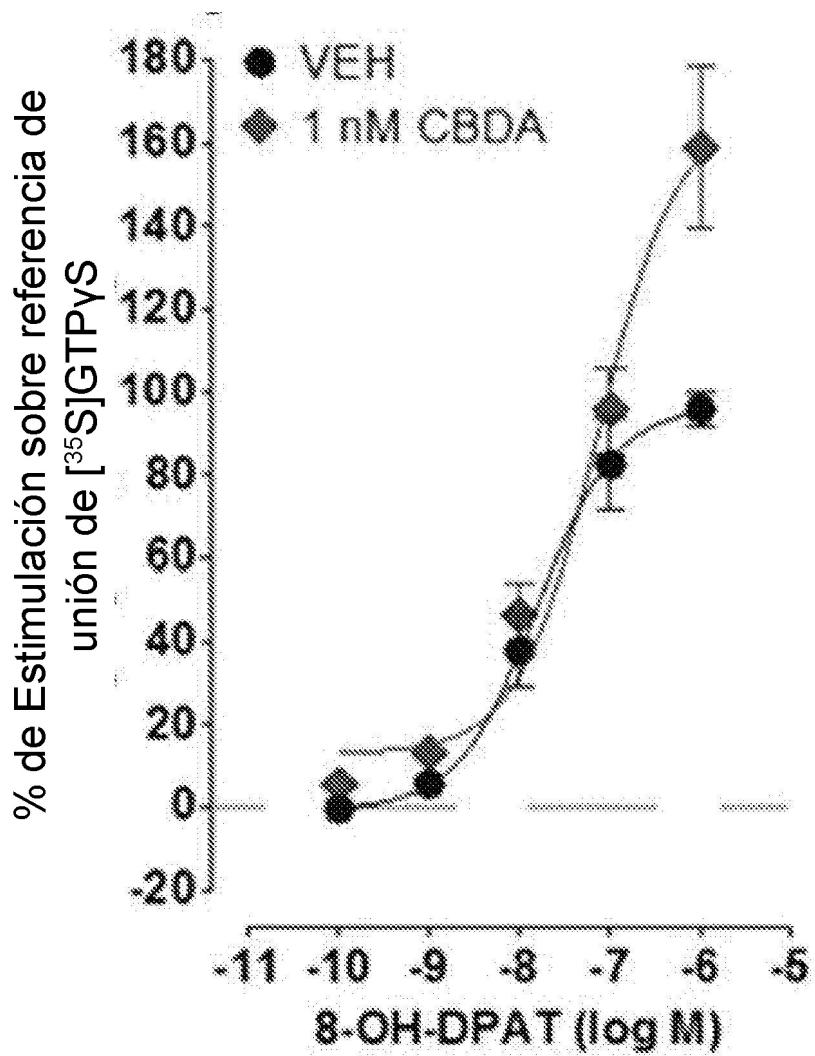


Figura 1C

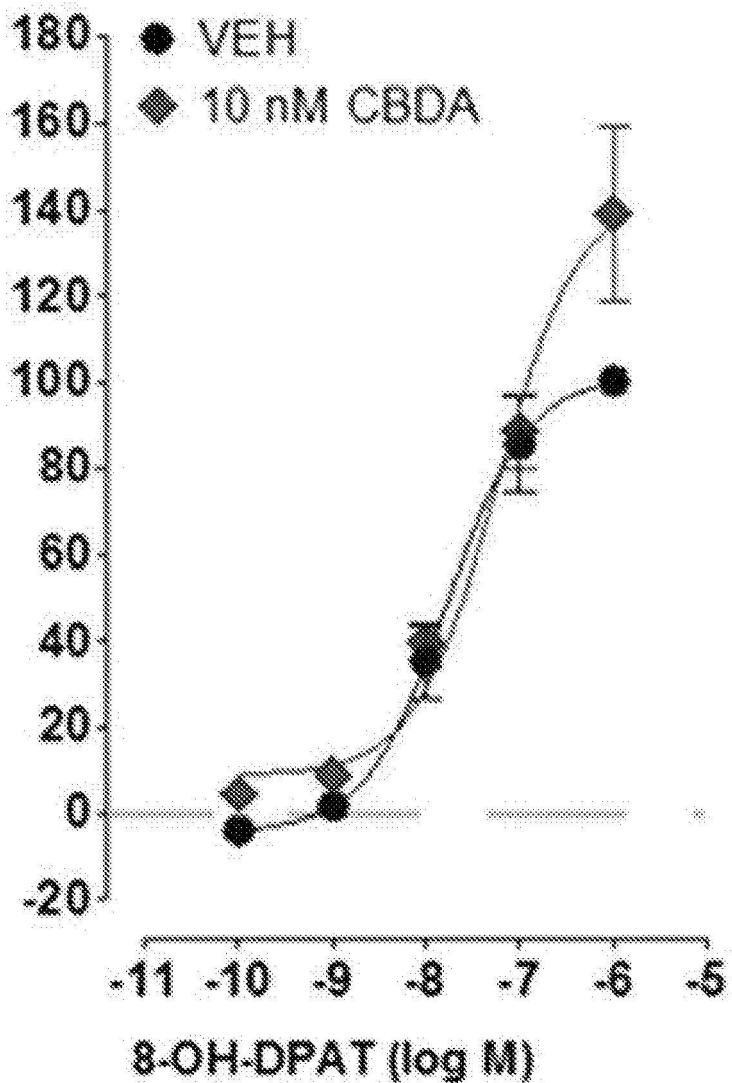


Figura 1D

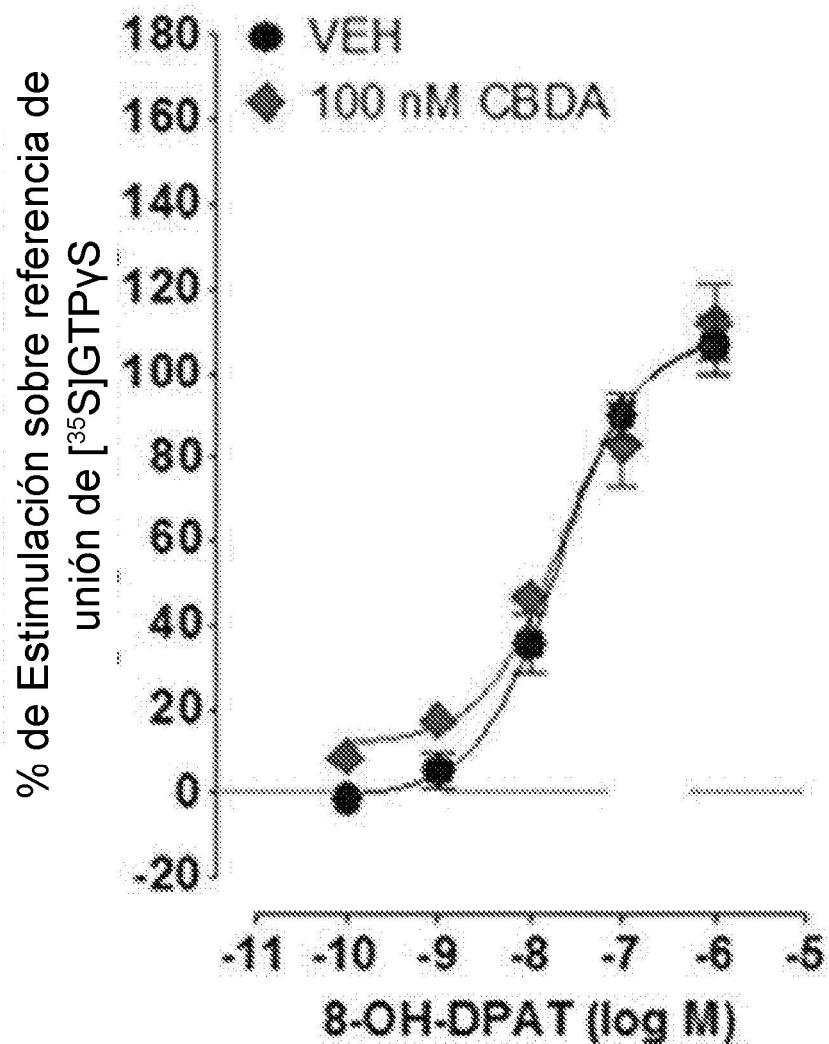


Figura 1E

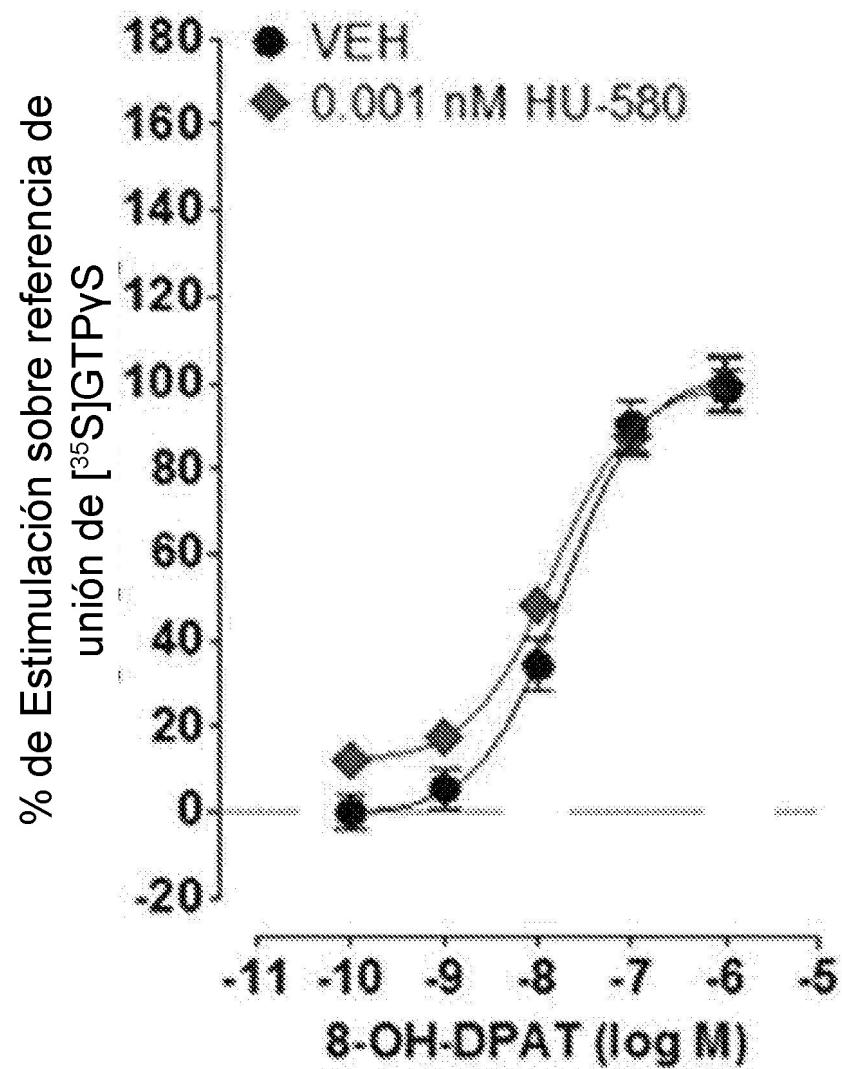
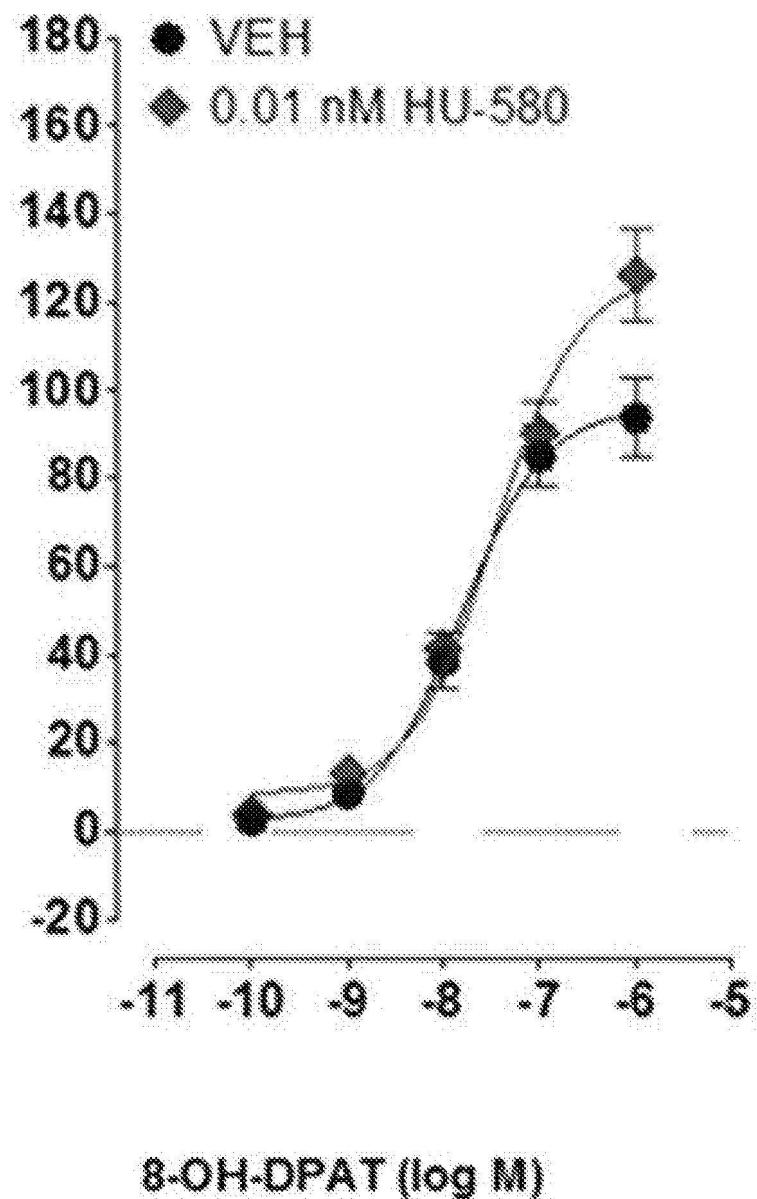


Figura 2A



**Figura 2B**

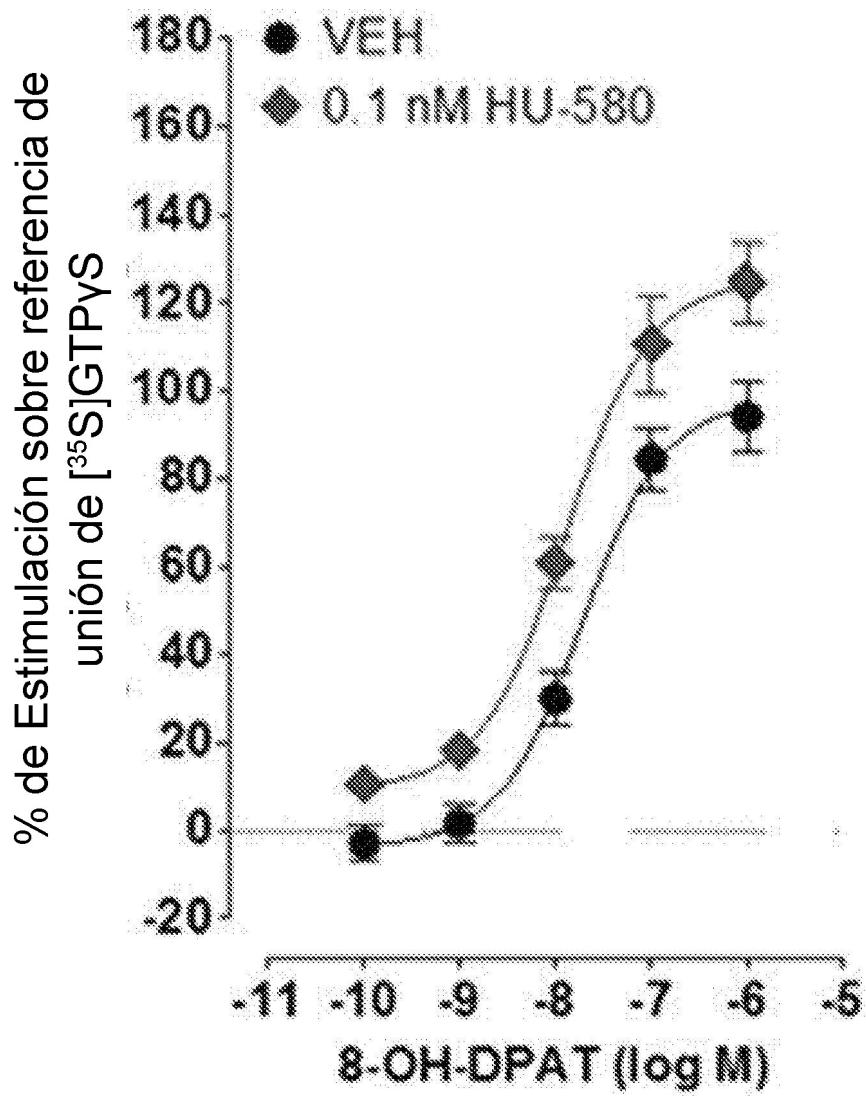
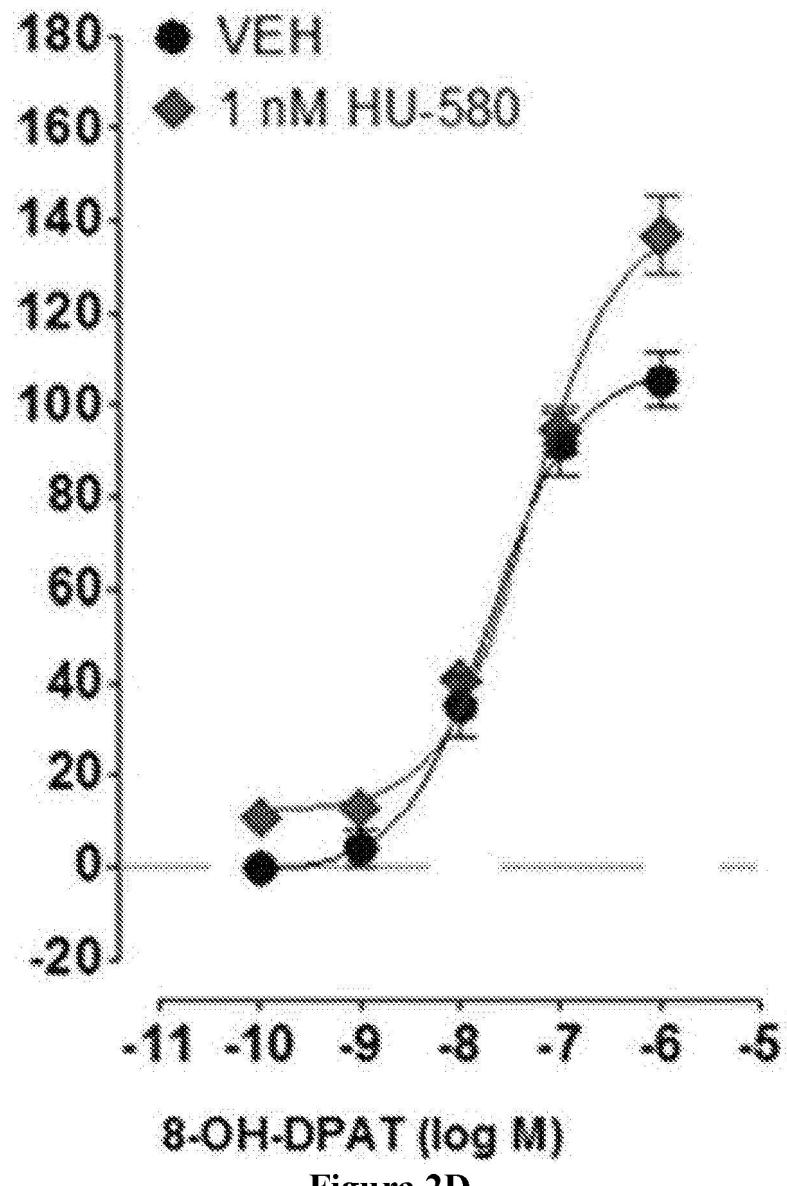


Figura 2C



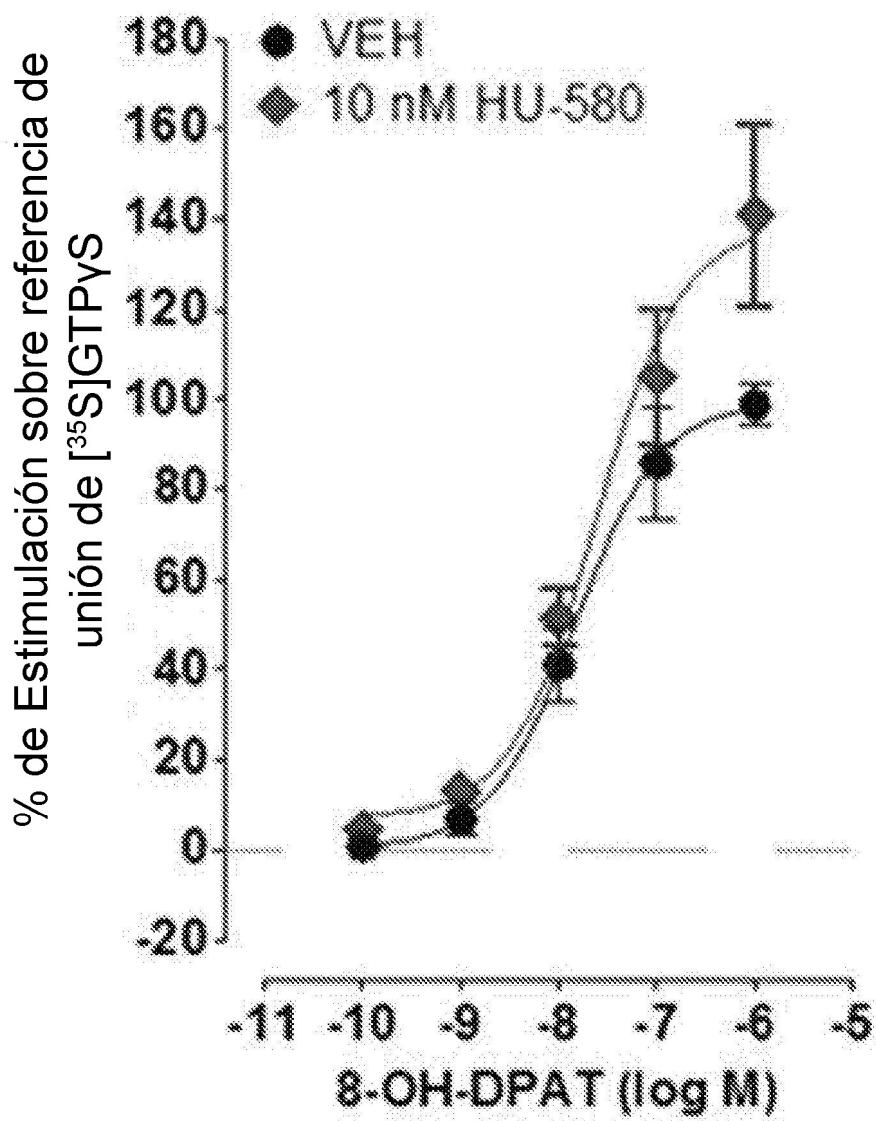
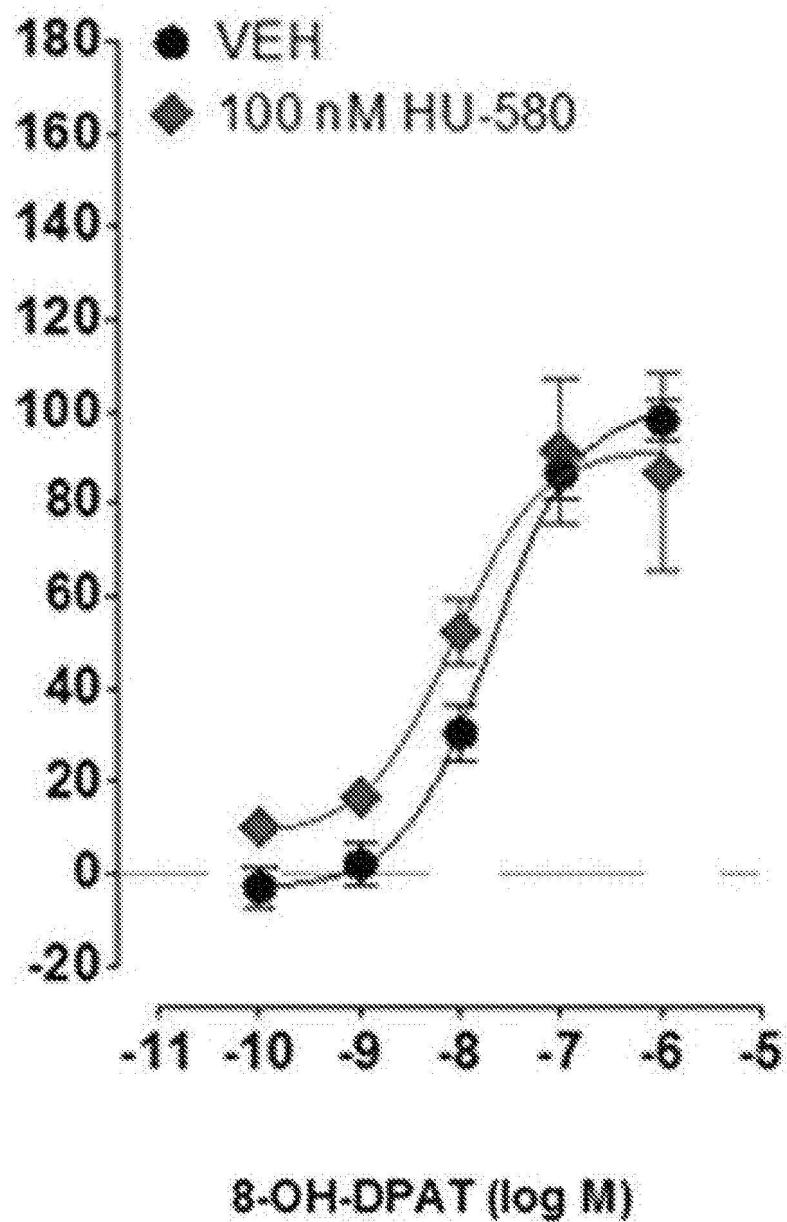
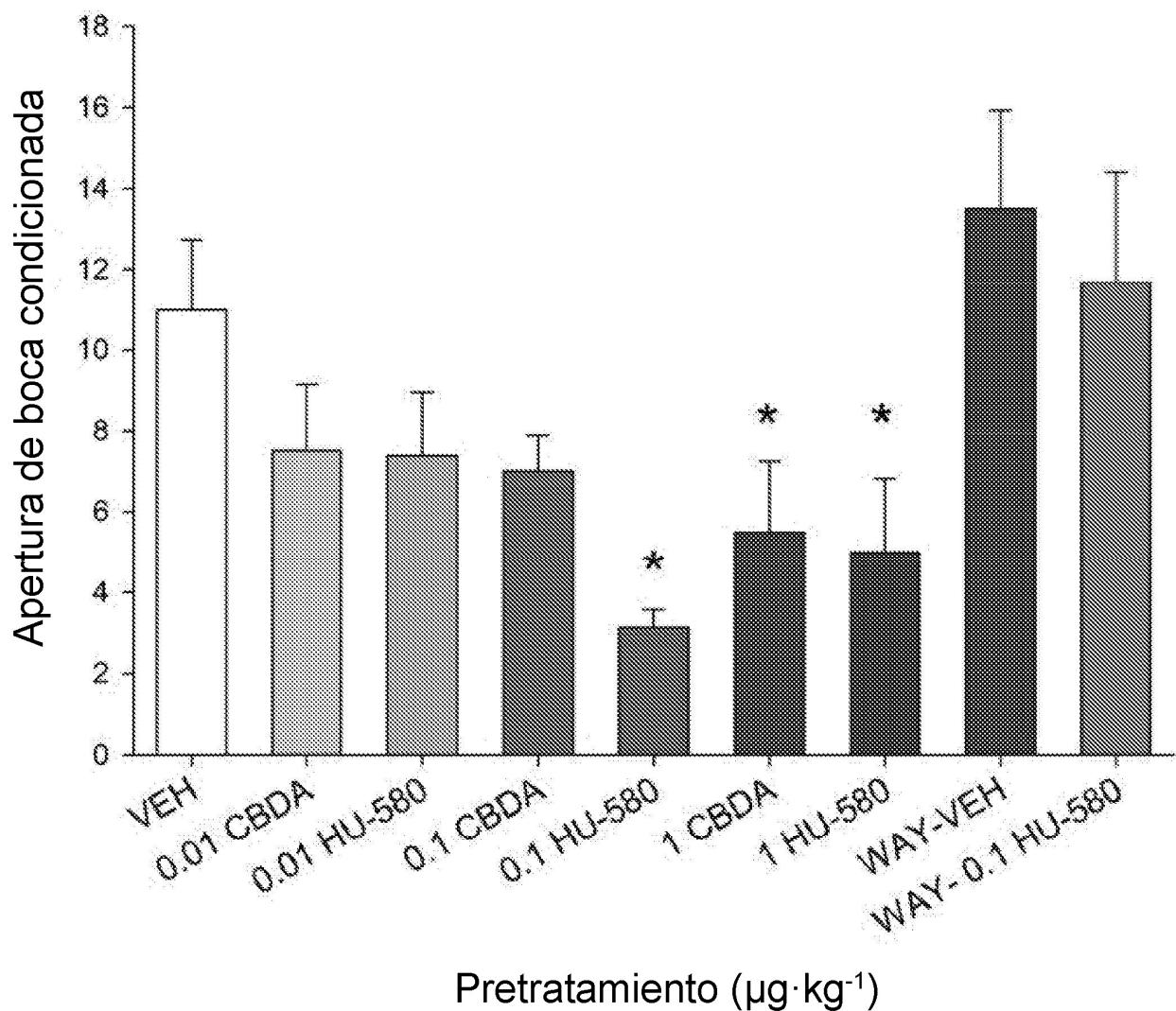


Figura 2E



**Figura 2F**



**Figura 3**

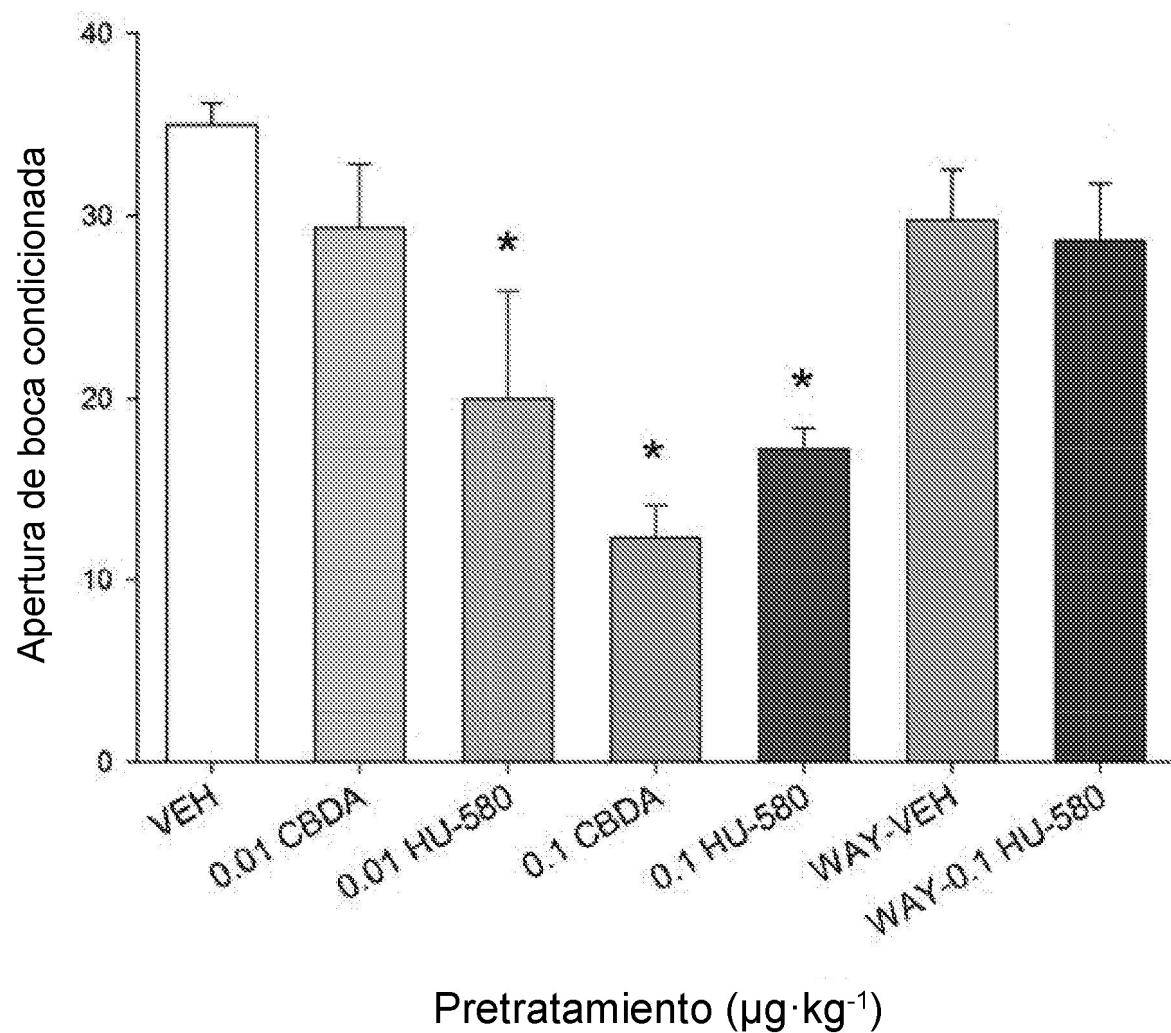
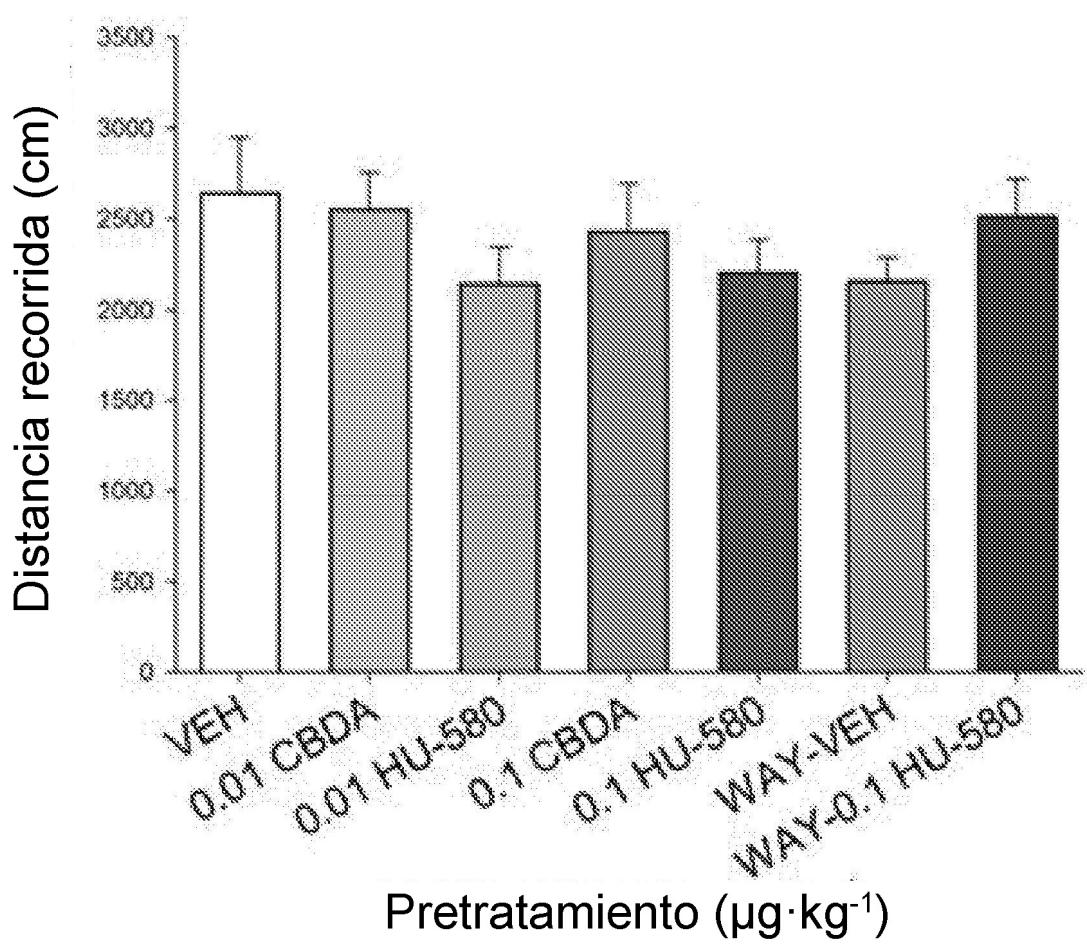
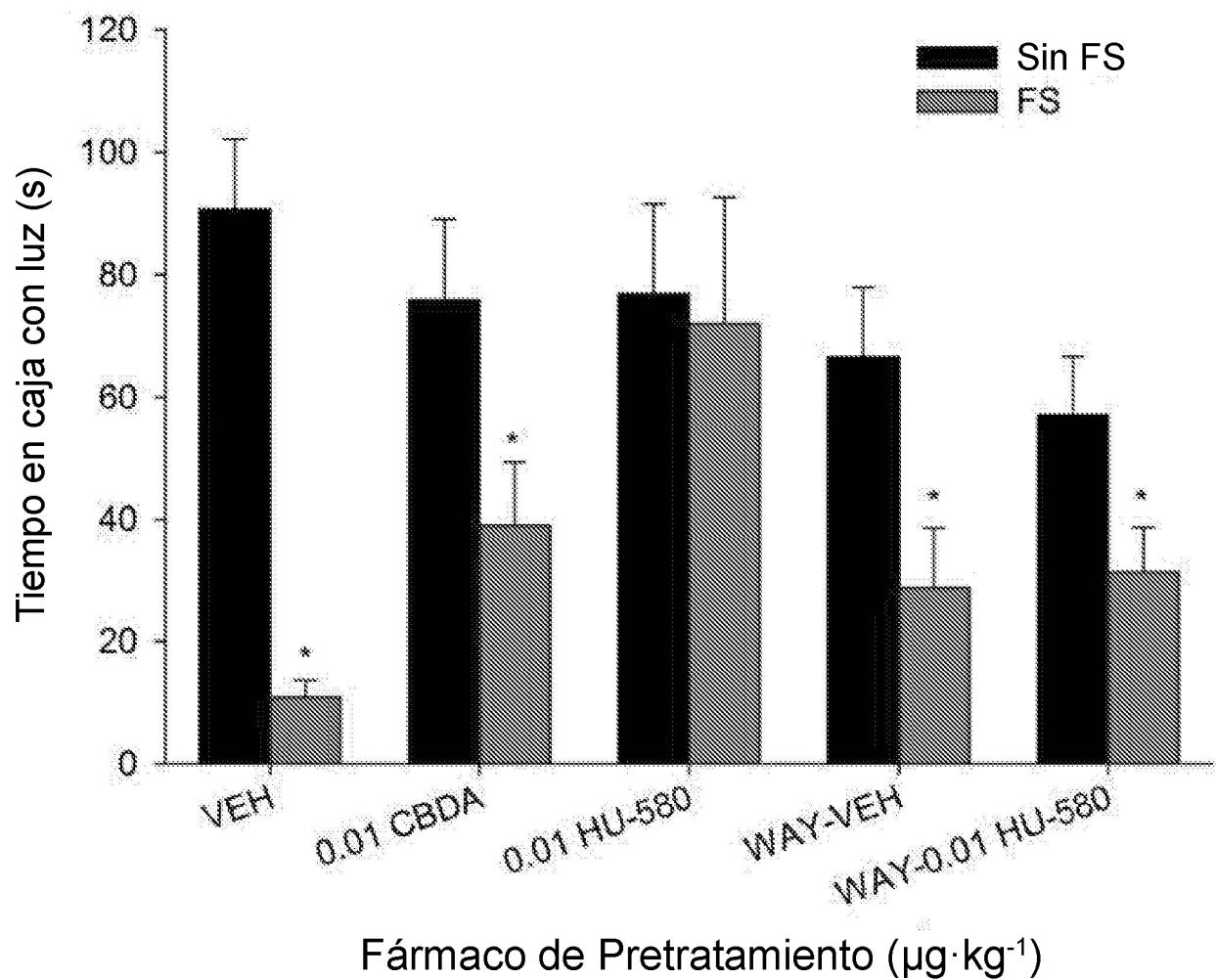


Figura 4A

**Figura 4B**

**Figura 5**