

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 992 665**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/05** (2006.01)

**A61P 25/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.11.2020 PCT/GB2020/052942**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.05.2021 WO21099781**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2020 E 20815902 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.05.2024 EP 4061344**

54 Título: **6-hidroxi cannabidiol para uso como medicamento**

30 Prioridad:

**21.11.2019 GB 201916974**

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

**16.12.2024**

73 Titular/es:

**GW RESEARCH LIMITED (100.0%)  
Sovereign House Vision Park Chivers Way Histon  
Cambridge, Cambridgeshire CB24 9BZ, GB**

72 Inventor/es:

**GUY, GEOFFREY;  
KNAPPERTZ, VOLKER;  
WHALLEY, BENJAMIN y  
WOOLLEY-ROBERTS, MARIE**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 992 665 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

6-hidroxi cannabidiol para uso como medicamento

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un compuesto cannabinoide de tipo cannabidiol (CBD) para su uso como medicamento.

El cannabinoide tipo CBD, 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD), es un metabolito del CBD.

El cannabinoide puede producirse por medios sintéticos.

Aquí se divulgan datos que demuestran la eficacia del 6-OH CBD en un modelo de enfermedad. Además, se describe un método para la producción de 6-OH CBD.

10 Antecedentes de la invención

Los cannabinoides son compuestos naturales y sintéticos estructural o farmacológicamente relacionados con los componentes de la planta de cannabis o con los agonistas endógenos (endocannabinoides) de los receptores cannabinoides CB1 o CB2. La única forma natural de producir estos compuestos es a través de la planta de cannabis. Cannabis es un género de plantas con flores de la familia *Cannabaceae*, que comprende las especies *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* y *Cannabis ruderalis* (a veces considerada como parte de *Cannabis sativa*).

15

Las plantas de cannabis comprenden una mezcla altamente compleja de compuestos. Se han identificado al menos 568 moléculas únicas. Entre estos compuestos se encuentran cannabinoides, terpenoides, azúcares, ácidos grasos, flavonoides, otros hidrocarburos, compuestos nitrogenados y aminoácidos.

20

Los cannabinoides ejercen sus efectos fisiológicos a través de una variedad de receptores que incluyen, pero no se limitan a, receptores adrenérgicos, receptores cannabinoides (CB1 y CB2), GPR55, GPR3 o GPR5. Los principales cannabinoides presentes en las plantas de cannabis son los ácidos cannabinoides ácido  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinólico ( $\Delta^9$ -THCA) y ácido cannabidiólico (CBDA) con pequeñas cantidades de sus respectivos cannabinoides neutros (descarboxilados). Además, el cannabis puede contener niveles más bajos de otros cannabinoides menores. "La composición química, el perfil farmacológico y los efectos fisiológicos completos de estas plantas medicinales y, lo que es más importante, de los extractos de cannabis, aún no se conocen en su totalidad". Lewis, M. M. et al., ACS Omega, 2, 6091-6103 (2017).

25

Los extractos crudos de plantas de cannabis que contienen CBD han sido utilizados por pacientes que sufren enfermedades y trastornos. Sin embargo, estos productos crudos no son adecuados para su uso en formulaciones farmacéuticas. Aquellos que buscan preparar preparaciones de CBD más consistentes para su uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos han hecho un esfuerzo concertado para preparar CBD sintéticamente o intentar eliminar todos los compuestos distintos del CBD, en particular los compuestos psicoactivos tales como el THC, de los cannabinoides derivados de plantas. Véase, por ejemplo, US 2014/0298511.

30

La presente invención abarca el sorprendente descubrimiento de que un metabolito del CBD tiene eficacia terapéutica. Este compuesto, el 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD), puede producirse sintéticamente y utilizarse en forma purificada.

35

Los cannabinoides son una clase de compuestos, muchos de los cuales pueden derivarse naturalmente de la planta de cannabis o producirse sintéticamente mediante síntesis química.

40

Se han identificado más de 100 cannabinoides diferentes producidos por el cannabis. Estos cannabinoides pueden dividirse en los siguientes grupos: fitocannabinoides, endocannabinoides y cannabinoides sintéticos (que pueden ser nuevos cannabinoides o versiones producidas sintéticamente de fitocannabinoides o endocannabinoides).

45

Los fitocannabinoides son cannabinoides que provienen de la naturaleza y se pueden encontrar en la planta de cannabis. Los fitocannabinoides pueden aislarse de las plantas para producir un extracto altamente purificado. Los fitocannabinoides pueden obtenerse en forma neutra (forma descarboxilada) o en forma de ácido carboxílico, dependiendo del método utilizado para extraer los cannabinoides del material vegetal. Por ejemplo, se sabe que calentar la forma de ácido carboxílico hará que la mayor parte de la forma de ácido carboxílico se descarboxile en la forma neutra. Los fitocannabinoides sólo pueden producirse a partir de plantas; sin embargo, pueden producirse versiones de fitocannabinoides sintéticamente mediante síntesis química.

50

Los endocannabinoides son neurotransmisores retrógrados endógenos basados en lípidos que se unen a receptores cannabinoides y proteínas receptoras cannabinoides que se expresan en todo el sistema nervioso

central de los mamíferos (incluido el cerebro) y el sistema nervioso periférico. El sistema endocannabinoide interviene en la regulación de diversos procesos fisiológicos y cognitivos, que incluyen la fertilidad, el embarazo, durante el desarrollo pre y postnatal, el apetito, la sensación de dolor, el estado de ánimo y la memoria, y en la mediación de los efectos farmacológicos del cannabis.

- 5 Los cannabinoides sintéticos son compuestos que tienen una estructura similar a la de los cannabinoides y que se fabrican utilizando medios químicos en lugar de la planta.

Algunos cannabinoides se describen con más detalle a continuación.

- 10 El cannabidiol (CBD) es uno de los principales cannabinoides constituyentes de las especies de *Cannabis*, tal como la planta de cáñamo (*Cannabis sativa*). A diferencia de otros cannabinoides, tales como el THC, el cannabidiol no se une a CB1 o CB2, o su unión a los receptores es insignificante en términos de inducción de un efecto farmacológico. Por lo tanto, el cannabidiol no causa los efectos del sistema nervioso central o periférico mediados por los receptores CB1 o CB2. El CBD tiene poca o ninguna actividad psicotrópica (cannabimimético) y su estructura molecular y propiedades son sustancialmente diferentes de las de otros cannabinoides.

- 15 La administración de cannabidiol ha sido objeto de investigación en un intento de proporcionar un tratamiento alternativo para diversas enfermedades y trastornos que pueden responder a dicho tratamiento.

Se han realizado muchos estudios en animales para determinar el metabolismo del CBD. La farmacocinética del CBD es compleja, principalmente debido a un importante efecto de primer paso. Esto a su vez hace que la biodisponibilidad del CBD oral sea pobre en humanos y otras especies.

- 20 Los metabolitos más abundantes del CBD son los derivados hidroxilados 7-carboxílicos del CBD que incluyen: 2"-OH-7-COOH,3",4",5"-trior CBD; CBD-glucurónido; 4"-OH-7-COOH CBD; 2"-OH-7-COOH CBD; 10-OH-7-COOH CBD; 3"-OH-7-COOH CBD; 7-OH-3"-COOH,4",5"-dior CBD; 7-COOH-8,9-dihidro-8,9-diOH CBD; 1"-OH-7-COOH CBD; 6-OH-42-COOH,5"-nor CBD; 6-OH-3"-COOH,4",5"-dior CBD; 7-COOH CBD; 7-OH-4"-COOH,5"-nor CBD; 4"-COOH,5"-nor CBD; 7-OH CBD; 8,9-dihidro-7,8,9-triOH CBD; cannabiol; 3"-COOH,4",5"-dior CBD; 2"-COOH,3",4",5"-trior CBD; 2",6-diOH,3",4",5"-trior CBD; 6,7-diOH CBD; 7-OH-1"-COOH,2",3",4",5"-tetraior CBD; 6-OH CBD; 7-OH-5"-COOH CBD; 1"-COOH,2",3",4",5"-tetraior CBD; 6-OH-1"-COOH,2",3",4",5"-tetraior CBD y 6-OH-5"-COOH CBD (Ujvary and Hanus, 2016).

- 25 La patente US 6,630,507 describe numerosos análogos del cannabidiol. El compuesto 6-OH CBD se detalla en el documento, sin embargo, no hay datos presentados para proporcionar evidencia de que este compuesto pueda tener alguna eficacia como agente terapéutico.

- 30 El tetrahidrocannabinol (THC) es el principal componente psicoactivo del cannabis. El THC es un agonista parcial de los receptores CB1 y CB2. El THC sintético o dronabinol está aprobado para el tratamiento de la pérdida de apetito en pacientes con SIDA y de las náuseas y vómitos causados por la quimioterapia contra el cáncer.

- 35 De los más de 100 cannabinoides naturales identificados en *Cannabis sativa*, siete han sido clasificados como compuestos tipo CBD, estos cannabinoides tienen la misma configuración absoluta que el CBD. Estos son: CBD, Ácido cannabidiólico (CBDA), Cannabidivarina (CBDV), Ácido Cannabidivarina (CBDVA), Cannabidiol-C1 (CBD-C1), Cannabidiol-C4 (CBD-C4), Cannabidiol-C6 (CBD-C6) y Cannabidiol monometil éter (CBDM).

- 40 El ácido cannabidiólico (CBDA) es la principal forma en la que existe el CBD en la planta de cannabis. Se convierte en CBD tras su descarboxilación.

La cannabidivarina (CBDV) es un homólogo del CBD, con la cadena lateral acortada por dos puentes de metileno. La CBDV es un cannabinoide no psicoactivo y ha demostrado tener actividad anticonvulsiva en un modelo de epilepsia en ratones.

- 45 El cannabidiol-C1 (CBD-C1) también conocido como cannabidiolcol es un homólogo del CBD, con la cadena lateral acortada por cuatro puentes de metileno. El CBD-C1 se encuentra de forma natural en las plantas que producen CBD, pero no se ha demostrado que tenga efectos terapéuticos.

El cannabidiol-C4 (CBD-C4) también conocido como nor-cannabidiol es un homólogo del CBD, con la cadena lateral acortada por un puente de metileno. El CBD-C4 se encuentra de forma natural en las plantas que producen CBD y antes de la presente invención no se había demostrado que tuviera efectos terapéuticos.

- 50 El cannabidiol-C6 (CBD-C6) es un homólogo del CBD, con la cadena lateral aumentada en un puente de metileno. El CBD-C6 puede aparecer de forma natural en las plantas que producen CBD y antes de la presente invención no se ha demostrado que tenga efectos terapéuticos.

El documento US6630507B1 divulga Cannabinoides como antioxidantes y neuroprotectores. Lander N., et al., Journal of the Chemical Society, Perkins Transactions 1, Royal Society of Chemistry, vol. 1, 1 de enero de 1976, páginas 8-16, describen síntesis totales de metabolitos de cannabidiol y delta1-tetrahidrocannabinol.

5 La presente invención demuestra por primera vez datos que indican que el compuesto 6-hidroxi cannabidiol puede tener beneficios terapéuticos.

Breve resumen de la divulgación

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención se proporciona 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD) para su uso como medicamento.

10 Preferiblemente, el 6-OH CBD está presente como compuesto sintético. Alternativamente, el 6-OH CBD está presente como compuesto puro y aislado.

15 Preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es superior a 100 mg/kg/día. Más preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es superior a 250 mg/kg/día. Más preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es superior a 500 mg/kg/día. Más preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es superior a 750 mg/kg/día. Más preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es superior a 1000 mg/kg/día. Más preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es superior a 1500 mg/kg/día.

20 Alternativamente, la dosis de 6-OH CBD es inferior a 100 mg/kg/día. Más preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es inferior a 50 mg/kg/día. Más preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es inferior a 20 mg/kg/día. Más preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es inferior a 10 mg/kg/día. Más preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es inferior a 5 mg/kg/día. Más preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es inferior a 1 mg/kg/día. Más preferiblemente, la dosis de 6-OH CBD es inferior a 0.5 mg/kg/día.

De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención se proporciona una composición para uso como medicamento que comprende 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD), y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

25 De acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención se proporciona un 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD) para su uso en el tratamiento de la epilepsia. Preferiblemente, la epilepsia se trata en un mamífero. Más preferiblemente, el mamífero es un humano. Alternativamente, el mamífero es un perro.

De acuerdo con un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona un método para la producción de 6-hidroxi cannabidiol.

Breve descripción de los dibujos

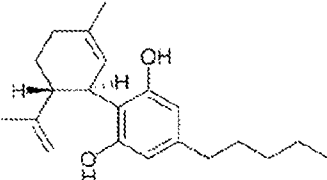
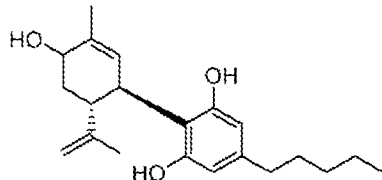
30 Las realizaciones de la invención se describen más adelante con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La figura 1 muestra el efecto del 6-OH CBD en la prueba MEST en ratón.

La Figura 2 muestra la farmacocinética del 6-OH CBD en plasma y cerebro de ratones tras una única administración intravenosa o intraperitoneal.

Cannabinoides y sus abreviaturas

35 Los cannabinoides descritos en la presente solicitud se enumeran a continuación junto con sus abreviaturas estándar.

CBD	Cannabidiol	
6-OH CBD	Alfa 6-hidroxi cannabidiol	

Descripción detallada

**Ejemplo 1: Método de producción sintética de alfa 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD)**

El compuesto 6-OH CBD es un metabolito conocido del cannabidiol.

5 La vía sintética descrita a continuación detalla una metodología que puede utilizarse para producir el cannabinoide alfa 6-OH CBD.

En el esquema R=C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>

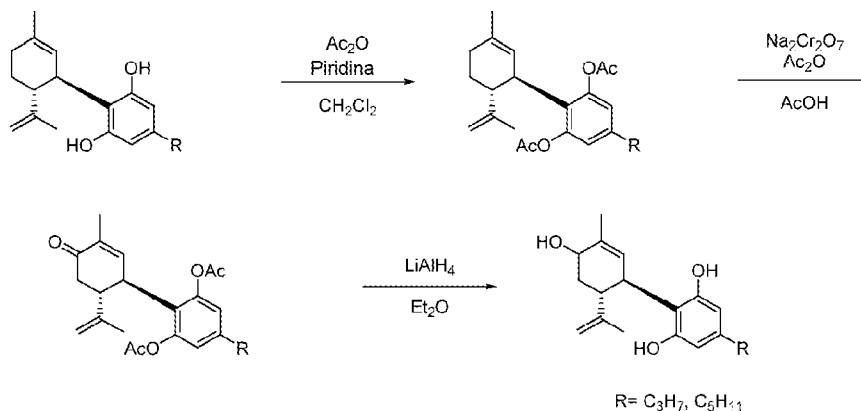
10 Al cannabidiol (5.00 g, 15.8 mmol) en piridina anhidra (20 mL) se añadió anhídrido acético (5.13 g, 4.75 mL, 50.2 mmol) y la solución se agitó durante 4 h. Se añadió diclorometano (300 mL) y la solución se lavó con agua (200 mL), ácido clorhídrico 1M (200 mL), bicarbonato de sodio saturado acuoso (200 mL), se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se concentró para dar diacetato de cannabidiol (5.72 g, cuantitativo), como un aceite amarillo pajizo que se utilizó sin purificación adicional.

15 Al diacetato de cannabidiol (6.18 g, 15.5 mmol) en ácido acético glacial (14 mL) y anhídrido acético (7.12 g, 6.59 mL, 69.8 mmol) se añadió dicromato de sodio (4.87 g, 18.6 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. La solución resultante se diluyó con agua (200 mL) y se extrajo con éter dietílico (200 mL seguidos de 150 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con bicarbonato de sodio acuoso saturado (2 × 100 mL), se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se concentraron para dar un aceite amarillo que se purificó usando un sistema de cromatografía automatizado Biotage Isolera en condiciones de fase normal (columna de sílice, gradiente de 5 → 32 % de acetato de etilo en gasolina) con detección a 254 nm para dar diacetato de 6-oxo-cannabidiol (2.03 g 33 %), como un aceite incoloro.

20 R<sub>f</sub> = 0.45 (acetato de etilo - gasolina, 1 : 4 v/v)

25 Al hidruro de aluminio y litio (355 mg, 9.37 mmol) en éter dietílico (36 mL) a 0 °C se añadió diacetato de 6-oxo-cannabidiol (0.92 g, 2.23 mmol) en éter dietílico (8 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla resultante se enfrió en un baño de hielo y se inactivó cuidadosamente con agua (10 mL) gota a gota. Se añadió ácido clorhídrico 1 M (60 mL) y la mezcla se extrajo con éter dietílico (100 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera saturada (80 mL), se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se concentró para dar un aceite amarillo pálido que se purificó usando un sistema automatizado de cromatografía Biotage Isolera en condiciones de fase normal (columna de sílice, gradiente de 7 → 47 % de acetato de etilo en gasolina) con detección a 254 nm para obtener 6-OH CBD (0.51 g, 69 %), como un sólido vítreo blanco.

R<sub>f</sub> = 0.34 (acetato de etilo - gasolina, 3 : 7 v/v)



30 Se confirmó que el material resultante era alfa 6-hidroxi-cannabidiol (6-OH CBD). El compuesto es un material amarillo vidrioso semisólido con la fórmula química C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub> y un peso molecular de 330.5 g/mol.

La pureza del compuesto se comprobó mediante HPLC, que demostró producir un material con una pureza del 95.6%.

35 El 6-OH CBD se almacenó a -20°C y se protegió de la luz hasta que se requirió para la prueba.

**Ejemplo 2: Evaluación de la actividad anticonvulsiva del 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD) mediante usando la prueba de convulsiones por electrochoque supramaximal (MES) en el ratón**

La eficacia del 6-OH CBD se probó en un modelo de convulsiones en ratones, la prueba de convulsiones por electrochoque supramaximal (MES).

5 La prueba de convulsión por electrochoque supramaximal (MES) se utiliza ampliamente de forma preclínica para evaluar las propiedades anticonvulsivantes de moléculas y fármacos antiepilépticos estándar (Loscher *et al.*, 1991).

La prueba EME es un modelo muy estricto en el que los ratones reciben un estímulo eléctrico predeterminado de alto nivel de intensidad suficiente para producir de forma fiable convulsiones tónicas extensoras de las extremidades posteriores en el 100% de los animales de control. Como tal, la prueba MES es una evaluación rigurosa de la actividad anticonvulsiva (Swinyard, 1985).

## 10 Métodos

Los ratones ingenuos se aclimataron a la sala de procedimientos en sus jaulas domésticas, con comida y agua disponibles *ad libitum*.

Los animales fueron dosificados i.p. de acuerdo con el grupo de tratamiento.

15 El vehículo (10ml/kg i.p. 60 min tiempo de pretratamiento) fue 1:1:18 vehículo 5% etanol, 5% kolliphor EL, 90% solución salina.

El compuesto de prueba, alfa 6-OH CBD se preparó de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo 1.

El compuesto de prueba, 6-OH CBD se administró a dosis de 3, 30, 100 y 200mg/kg administrados a 10ml/kg i.p. 60min de tiempo de pre-tratamiento.

20 Además, se administró una dosis de 100 mg/kg de CBD a 10 ml/kg i.p. a 120 minutos antes del tratamiento para evaluar el efecto del fármaco en un curso de tiempo más largo.

El control positivo valproato se utilizó a 250mg/kg (10ml/kg i.p. 30min tiempo de pretratamiento).

25 Se evaluó individualmente a los ratones en cuanto a la producción de una convulsión tónica extensora de las extremidades posteriores tras un electrochoque predeterminado de alto nivel (30 mA: 50 Hz) administrado por la córnea (0.2 segundos de duración) de intensidad suficiente para producir de forma fiable convulsiones tónicas de las extremidades posteriores en el 100% de los animales de control.

La inducción de convulsiones se mide como un efecto de todo o nada que se puntúa como presente (+) o ausente (0) para cada animal.

Los datos fueron recolectados por un observador que desconocía el tratamiento de cada animal y se expresaron como el número de + o 0 para cada grupo de tratamiento.

30 A continuación se generó el porcentaje de inhibición del grupo pertinente tratado con vehículo (la protección relativa a los controles tratados con vehículo).

Las diferencias significativas entre los grupos de tratamiento individual y los grupos tratados con vehículo se evaluaron mediante la prueba de probabilidad exacta de Fisher de 2 colas ( $p < 0.05$  se consideró significativa).

## Resultados

35 La Tabla 1 muestra los datos obtenidos en este experimento.

En el grupo tratado con valproato de control positivo (250 mg/kg), administrado i.p. 30 minutos antes de la prueba, se calificó a todos los animales como no convulsivos. Este resultado fue estadísticamente significativo ( $p < 0.001$ ) en comparación con el control con vehículo.

40 En los grupos de tratamiento con 6-OH CBD, administrado i.p. 120 minutos antes de la prueba, la dosis de 3 mg/kg de 6-OH CBD fue ineficaz. Sin embargo, las dosis de 30, 100 y 200 mg/kg de 6-OH CBD permitieron a todos los ratones del grupo soportar las convulsiones y produjeron un efecto estadísticamente significativo en comparación con el vehículo ( $p < 0.001$ ).

Además, la dosis de 6-OH CBD (100mg/kg) administrada 120 minutos también produjo una reducción estadísticamente significativa de las convulsiones en comparación con el control con vehículo.

45 Tabla 1: Evaluación del efecto de 6-OH CBD en la prueba MES

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	N	Tiempo de pretratamiento (min)	% de cambio con respecto al vehículo	Significancia
Vehículo	-	10	60	-	-
Valproato	250	10	30	100%	P<0.001
6-OH CBD	3	10	60	0%	-
6-OH CBD	30	10	60	100%	P<0.001
6-OH CBD	100	10	60	100%	P<0.001
6-OH CBD	200	10	60	100%	P<0.001
6-OH CBD	100	10	120	100%	P<0.001

### Conclusiones

Estos datos demuestran por primera vez un efecto terapéutico del compuesto 6-OH CBD.

5 Los datos que muestran que el 6-OH CBD administrado 2 horas (120 minutos) antes de que los ratones recibieran el electrochoque demuestra que el compuesto fue capaz de tener un efecto duradero.

Estos datos son significativos, ya que aportan pruebas hasta ahora desconocidas de que este cannabinoide puede tener valor terapéutico.

### Ejemplo 3: Evaluación de la actividad anticonvulsiva del 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD) usando la prueba del umbral máximo de convulsiones por electrochoque (MEST) en el ratón

10 La eficacia del 6-OH CBD se probó en un modelo de ratón de convulsión generalizada, la prueba de umbral máximo de convulsión por electrochoque (MEST).

La prueba de umbral máximo de convulsión por electrochoque (MEST) se utiliza ampliamente de forma preclínica para evaluar las propiedades pro o anticonvulsivas de los compuestos de prueba (Loscher et al., 1991).

15 En la prueba MEST, la capacidad de un fármaco para alterar la corriente umbral de convulsión necesaria para inducir convulsiones tónicas extensoras de las extremidades posteriores se mide según un método "ascendente y descendente" de titulación del choque (Kimball et al., 1957). Un aumento del umbral convulsivo es indicativo de un efecto anticonvulsivo. Los fármacos antiepilépticos, incluidos los bloqueadores de los canales de sodio (por ejemplo, lamotrigina) con eficacia clínicamente probada contra las convulsiones tónico-clónicas generalizadas, muestran todas las propiedades anticonvulsivantes en esta prueba en el ratón.

20

Por el contrario, una reducción del umbral convulsivo es indicativa de un efecto proconvulsivo como el observado con agentes convulsivos conocidos tales como la picrotoxina.

25 La capacidad de un compuesto de prueba para alterar la intensidad del estímulo, expresada como corriente (mA), necesaria para inducir la presencia de convulsiones tónicas extensoras de las extremidades posteriores, se evalúa en el MEST. El resultado de la presencia (+) o ausencia (0) de convulsiones tónicas extensoras de las extremidades posteriores observadas a partir de una corriente para producir la extensión tónica de las extremidades posteriores en el 50% de los animales del grupo de tratamiento (CC<sub>50</sub>) determina el umbral convulsivo para el grupo de tratamiento y los efectos se compararon a continuación con el CC<sub>50</sub> del grupo de control con vehículo.

### 30 Métodos

#### Detalles del estudio:

Los ratones ingenuos se aclimataron a la sala de procedimientos en sus jaulas domésticas durante un máximo de 7 días, con comida y agua disponibles *ad libitum*.

35 Todos los animales se pesaron al comienzo del estudio y se asignaron aleatoriamente a los grupos de tratamiento sobre la base de una distribución media del peso corporal entre los grupos. Todos los animales se dosificaron a 10 mL/kg mediante inyección intraperitoneal (i.p), bien sea con vehículo, compuesto de ensayo a 3, 10 o 30 mg/kg o diazepam a 2.5 mg/kg.

40 Los animales se evaluaron individualmente en cuanto a la producción de una convulsión tónica extensora de las extremidades posteriores a los 30 min posdosis de vehículo, a los 30, 15 y 60 min posdosis de 6-OH CBD a 3, 10 y 30 mg/kg respectivamente, y a los 30 min posdosis de diazepam, a partir de un único electrochoque.

El primer animal dentro de un grupo de tratamiento recibió una descarga a la corriente  $CC_{50}$  esperada o estimada. Para los animales siguientes, la corriente se redujo o aumentó dependiendo del resultado de las convulsiones del animal precedente.

5 Los datos generados de cada grupo de tratamiento se utilizaron para calcular los valores  $CC_{50} \pm SEM$  para el grupo de tratamiento.

Compuestos de prueba:

Vehículo: (5% etanol, 5% solutol, 90% solución salina) se preparó como sigue: 2 mL de etanol, 2 mL de solutol se calentaron a 60°C, en 36 mL de solución salina (1:1:18).

Control positivo: se utilizó diazepam a 2.5mg/kg.

10 El compuesto de prueba, alfa 6-OH CBD se preparó de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo 1. El 6-OH CBD se administró a 3, 10 y 30mg/kg (i.p.) en una formulación 1:1:18 de etanol:solutol:solución salina al 0.9%.

Recolección de muestras:

15 Cada animal fue sacrificado humanitariamente inmediatamente después de la producción de una convulsión por destrucción del cerebro al golpear el cráneo, seguida de la confirmación del cese permanente de la circulación por decapitación según The Humane Killing of Animals under Schedule 1 to the Animals (Scientific Procedures) Act 1986. Tras la decapitación se procedió a la recolección terminal de sangre y cerebro.

20 La sangre se recolectó en tubos de litio-heparina y se centrifugó a 4°C durante 10 minutos a 1500 x g. Se extrajo el plasma resultante (>100  $\mu$ L) y se dividió en 2 alícuotas de tubos Eppendorf de 0.5 mL que contenían 100  $\mu$ L de ácido ascórbico (100 mg/mL) para su estabilización. Se extrajeron los cerebros, se lavaron en solución salina y se dividieron por la mitad. Cada mitad se colocó en crioviales separados con tapón de rosca de 2 mL, se pesó y se congeló en cardice.

Análisis estadístico

25 Los datos de cada grupo de tratamiento se registraron como el número de + y 0 en cada nivel de corriente empleado y esta información se utiliza a continuación para calcular el valor  $CC_{50}$  (corriente necesaria para que el 50% de los animales muestren un comportamiento convulsivo)  $\pm$  error estándar.

Los efectos del 6-OH CBD también se calcularon como cambio porcentual en el  $CC_{50}$  con respecto al grupo de control con vehículo.

30 Las diferencias significativas entre los animales tratados con fármacos y los controles se evaluaron según Litchfield y Wilcoxon (1949).

Resultados

La Tabla 2 muestra los datos producidos en este experimento, y la Figura 1 ilustra estos resultados.

En el grupo vehículo, el valor de  $CC_{50}$  se calculó en 24.0mA.

35 En el grupo tratado con diazepam (2.5 mg/kg) de control positivo, administrado i.p. 30 minutos antes de la prueba, el valor de  $CC_{50}$  fue de 48.8mA. Este resultado fue estadísticamente significativo ( $p < 0.001$ ) en comparación con el control con vehículo.

En los grupos de tratamiento con 6-OH CBD, administrado i.p. 30, 15 y 60 minutos antes de la prueba, las dosis de 3, 10 y 30 mg/kg de 6-OH CBD produjeron un valor de  $CC_{50}$  estadísticamente significativo en comparación con el vehículo en las tres dosis del compuesto.

40 Tales datos son indicativos de que este compuesto será de beneficio terapéutico.

Tabla 2: Evaluación del efecto de 6-OH CBD en la prueba MEST

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	N	Tiempo de pretratamiento (min)	$CC_{50} \pm SEM$	% de cambio con respecto al vehículo	Significancia
Vehículo	-	12	30	24.0 $\pm$ 0.4	-	-
Diazepam	2.5	12	30	48.8 $\pm$ 1.1	103%	$P < 0.001$
6-OH CBD	3	12	30	30.0 $\pm$ 1.1	25%	$P < 0.001$

6-OH CBD	10	12	15	56.5 ± 2.1	135%	P<0.001
6-OH CBD	30	12	60	102.5 ± 2.2	327%	P<0.001

#### Conclusiones

5 El 6-OH CBD produjo un aumento relacionado con la dosis en MEST, lo que proporciona evidencia de que este compuesto exhibe propiedades anticonvulsivas. Se observaron efectos significativos con 3, 10 y 30 mg/kg, en comparación con el vehículo.

Estos datos son significativos, ya que aportan pruebas hasta ahora desconocidas de que este cannabinoide puede tener valor terapéutico.

#### Ejemplo 4: Farmacocinética del 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD)

10 El objetivo de este estudio fue determinar los parámetros farmacocinéticos cerebrales y plasmáticos del 6-OH CBD tras una única administración intravenosa o intraperitoneal de 6-OH CBD al ratón; y determinar las relaciones de concentración cerebral: plasmática del 6-OH CBD.

#### Métodos

Noventa y nueve ratones macho recibieron cada uno una dosis única intravenosa o intraperitoneal de 6-OH CBD, como se detalla a continuación en la Tabla 3.

15

Tabla 3: Detalles de la dosificación

Ruta de la dosis	Nivel de Dosis (mg/kg)	Número de animales
Intravenosa	1	27
intraperitoneal	3	27
intraperitoneal	10	27
intraperitoneal	30	27

Para cada formulación, se formuló 6-OH CBD a la concentración requerida en etanol: Kolliphor EL (Cremophor EL): Solución salina al 0.9% (p/v) (1:1:18, v/v/v).

20 Cada animal recibió una única administración intravenosa, a través de una vena de la cola, a un volumen de dosis nominal de 2 mL/kg o una única administración intraperitoneal a un volumen de dosis nominal de 5 mL/kg.

Tras la dosificación, se recogieron muestras de sangre terminal de cada animal mediante punción cardíaca, y se extirparon cerebros, en cada uno de los siguientes puntos temporales:

Grupos intravenosos: 7, 15 y 30 minutos, 1, 2, 4, 8, 12 y 24 horas;

Grupos intraperitoneales: 15 y 30 minutos, 1, 2, 4, 8, 12 y 24 horas.

25 La sangre se recolectó en tubos que contenían heparina de litio anticoagulante y se centrifugó para preparar plasma. Las muestras de cerebro se congelaron en hielo seco, después se pesaron y se almacenaron ultracongeladas antes del bioanálisis. Las restantes se desecharon. El plasma se estabilizó con un volumen igual de solución de ácido ascórbico y se almacenó ultracongelado antes del bioanálisis.

30 Se analizaron muestras de plasma estabilizado para determinar las concentraciones de 6-OH CBD, utilizando métodos LC-MS/MS cualificados. Los resultados de estos análisis se evaluaron para determinar parámetros farmacocinéticos no compartimentales.

#### Resultados

Las Tablas 4 y 5 muestran los resultados obtenidos en este estudio, y la Figura 2 ilustra los resultados. Se determinaron los siguientes parámetros:

35

Se determinaron los siguientes parámetros:

$C_{\text{máx}}$  Concentración máxima observada.

$T_{\text{máx}}$  Tiempo de máxima concentración observada.

## ES 2 992 665 T3

$AUC_{0-t}$  Área bajo la curva concentración-tiempo desde la hora 0 hasta la última concentración cuantificable, estimada mediante la regla lineal trapezoidal.

$AUC_{0-24}$  Área bajo la curva concentración-tiempo de la hora 0 a la hora 24, estimada mediante la regla lineal trapezoidal.

5  $t_{1/2}$  Vida media de eliminación, determinada como  $\ln(2)/\lambda_z$ .

Cl Depuración, calculada (sólo para dosis intravenosas) como  $Dosis / AUC_{0-inf}$ .

Vss Volumen de distribución, basado en la fase de eliminación terminal, calculado (sólo para dosis intravenosas) como  $Cl/\lambda_z$ .

$F_{abs}$  Biodisponibilidad absoluta de la dosis intraperitoneal.

10

Tabla 4: Parámetros farmacocinéticos compuestos de 6-OH CBD en plasma y cerebro tras una única administración intravenosa o intraperitoneal.

Matriz	Tratamiento	Nivel de dosis (mg/kg)	C <sub>max</sub> (ng/mL)	T <sub>max</sub> (h)	AUC <sub>0-1</sub> (h*ng/mL)	AUC <sub>0-24</sub> (h*ng/mL)	t <sub>1/2</sub> (h)	F <sub>abs</sub> (%)	Cl (mL/min/kg)	V <sub>ss</sub> (L/kg)
Plasma	IV	1	775	0.117	342	343	0.451	NA	48.7	1.90
	IP	3	658	0.250	533	535	0.993	52.1	NA	NA
		10	2550	0.250	2590	2600	1.08	75.8	NA	NA
		30	11000	0.250	17700	17700	0.959	173	NA	NA
Cerebro	IV	1	1580	0.117	679	690	0.312	NA	NA	NA
	IP	3	861	0.500	756	768	0.569	NA	NA	NA
		10	3680	0.250	3750	3940	0.706	NA	NA	NA
		30	13500	1.00	25000	25000	0.919	NA	NA	NA

Tabla 5: Relaciones cerebro: plasma para valores  $C_{m\acute{a}x}$  y  $AUC_{0-24}$  de 6-OH CBD tras una única administración intraperitoneal de 6-OH CBD

Ruta de la dosis	Nivel de Dosis (mg/kg)	Cerebro : Plasma	
		$C_{m\acute{a}x}$	$AUC_{0-24}$
IV	1	2.03	2.01
IP	3	1.29	1.44
IP	10	1.45	1.52
IP	30	1.23	1.41

5 Como puede observarse en la Tabla 4, tras la administración intravenosa (IV) de 6-OH CBD, a un nivel de dosis de 1 mg/kg, se observó  $T_{m\acute{a}x}$  a las 0.117 horas (7 minutos) posdosis. Tras alcanzar el  $C_{m\acute{a}x}$ , las concentraciones de 6-OH CBD disminuyeron, con una semivida ( $t_{1/2}$ ) de 0.451 horas. La depuración plasmática total fue de 48.7 mL/min/kg y el volumen de distribución fue de 1.90 L/kg.

10 Tras la administración intraperitoneal (IP) a 3, 10 o 30 mg/kg, se absorbió 6-OH CBD, con valores de  $T_{m\acute{a}x}$  de 0.250 horas (15 minutos) en cada nivel de dosis. Tras alcanzar la  $C_{m\acute{a}x}$ , las concentraciones plasmáticas disminuyeron, con valores de semivida ( $t_{1/2}$ ) que oscilaron entre 0.993 y 1.08 horas y similares en cada nivel de dosis evaluado.

15 Tras la administración IP, la exposición al 6-OH CBD en plasma (evaluada por los valores de  $C_{m\acute{a}x}$  y  $AUC_{0-24}$ ) aumentó con cada incremento en el nivel de dosis entre 3 y 30 mg/kg. Los aumentos observados en la exposición fueron mayores que los proporcionales a la dosis, con aumentos de 16.7 veces para el  $C_{m\acute{a}x}$  y 33.2 veces para el  $AUC_{0-24}$  para un aumento de 10 veces en el nivel de dosis.

La biodisponibilidad absoluta del 6-OH CBD tras la administración IP fue del 52.1%, 75.8% y 173%, a 3, 10 y 30 mg/kg respectivamente.

20 Tras la administración sistémica, el 6-OH CBD apareció en el cerebro, con valores de  $T_{m\acute{a}x}$  de 0.117 horas tras la dosificación IV y que oscilaron entre 0.250 y 1 horas. Tras alcanzar el  $C_{m\acute{a}x}$ , las concentraciones de 6-OH CBD disminuyeron, con valores de semivida ( $t_{1/2}$ ) de 0.312 horas tras la administración IV y que oscilaron entre 0.569 y 0.919 horas, con tendencia a aumentar con el incremento del nivel de dosis, tras la administración IP.

25 Como puede verse en la Tabla 5, tras la administración IP, la exposición al 6-OH CBD en el cerebro (evaluada por los valores de  $C_{m\acute{a}x}$  y  $AUC_{0-24}$ ) aumentó con cada incremento en el nivel de dosis entre 3 y 30 mg/kg. Los aumentos observados en la exposición fueron mayores que proporcionales a la dosis, con aumentos de 15.8 veces para  $C_{m\acute{a}x}$  y 32.6 veces para  $AUC_{0-24}$  para un aumento de 10 veces en el nivel de dosis.

Las relaciones cerebro: plasma para 6-OH CBD  $C_{m\acute{a}x}$  y  $AUC_{0-24}$  oscilaron entre 1.23 y 2.03 para  $C_{m\acute{a}x}$  y entre 1.41 y 2.01 para  $AUC_{0-24}$ . Tras la administración IP, las relaciones de ambos parámetros fueron similares en cada uno de los niveles de dosis evaluados. Sin embargo, las relaciones de ambos parámetros fueron mayores tras la administración IV que tras la IP.

30 Conclusión

Tras la administración intraperitoneal, el 6-OH CBD se absorbió con valores de  $T_{m\acute{a}x}$  de 15 min para todas las dosis IP; y de 7 min para 1 mg/kg IV.

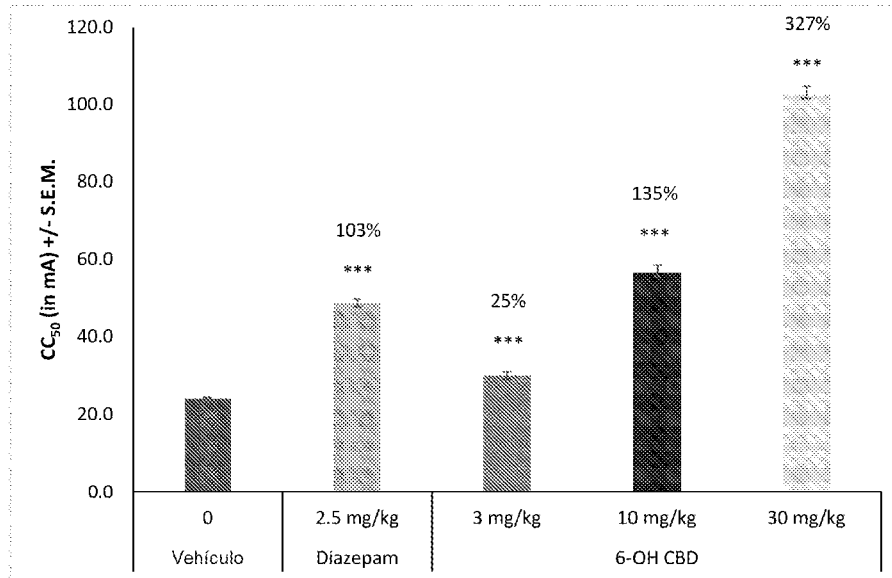
Los resultados de este estudio proporcionan pruebas de buenos parámetros farmacocinéticos (biodisponibilidad, depuración, etc.) para el compuesto 6-OH CBD.

35

**REIVINDICACIONES**

1. 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD) para uso como medicamento.
2. 6-OH CBD para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el 6-OH CBD está en forma de compuesto sintético.
- 5 3. 6-OH CBD para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el 6-OH CBD está en forma de compuesto puro o aislado.
4. 6-OH CBD para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la dosis de 6-OH CBD es superior a 100 mg/kg/día.
- 10 5. 6-OH CBD para uso de acuerdo con una cualquiera de las rivindicaciones 1 a 3, en el que la dosis de 6-OH CBD es inferior a 100 mg/kg/día.
6. Una composición para uso como medicamento que comprende 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD) y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
7. 6-hidroxi cannabidiol (6-OH CBD) para uso en el tratamiento de la epilepsia.
8. 6-OH CBD para uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la epilepsia tratada es en un mamífero.
- 15 9. 6-OH CBD para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el mamífero es un humano.
10. 6-OH CBD para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el mamífero es un perro.

**Figura 1: Efecto de 6-OH Cannabidiol (6-OH CBD) en el umbral de convulsiones generalizadas inducidas por electrochoque (MEST) en el ratón**



\* P<0.05; \*\* P<0.01; \*\*\* P<0.001 Cambio de significancia en umbral cuando se compara con el vehículo propio

Figura 2: Farmacocinéticas de 6-OH Cannabidiol (6-OH CBD) en plasma y cerebro de ratones después de una administración individual intravenosa o intraperitoneal

