

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 538 219**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/454** (2006.01)

**A61K 31/427** (2006.01)

**A61P 25/00** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2008 E 08840052 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2015 EP 2211860**

54 Título: **Terapia de combinación para reducir los efectos secundarios mediante el uso de ligandos de los receptores cannabinoides**

30 Prioridad:

**18.10.2007 US 980967 P**

**16.10.2008 US 252811**

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

**18.06.2015**

73 Titular/es:

**ABBVIE INC. (100.0%)  
1 North Waukegan Road  
North Chicago, IL 60064, US**

72 Inventor/es:

**CARROLL, WILLIAM, A.**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

ES 2 538 219 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

Terapia de combinación para reducir los efectos secundarios mediante el uso de ligandos de los receptores cannabinoides

5

**Campo y antecedentes de la técnica**

La presente solicitud se refiere a un método de tratamiento de estados de dolor con menos efectos secundarios a causa de un uso terapéutico de un agonista del receptor cannabinoide CB<sub>2</sub> que comprende una terapia de combinación que consiste en un agonista del receptor cannabinoide CB<sub>2</sub> en una cantidad eficaz para bloquear los efectos adversos pero no antagonizar el efecto terapéutico del agonista del receptor cannabinoide.

10

El (-)- $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC), el principal constituyente psicoactivo de la marihuana, ejerce un amplia gama de efectos biológicos a través de sus interacciones con dos subtipos del receptor cannabinoide (CB), CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub>. Los receptores CB<sub>1</sub> se expresan considerablemente en el sistema nervioso central y, en menor medida, en la periferia de diversos tejidos de los sistemas cardiovascular y gastrointestinal. Por el contrario, los receptores CB<sub>2</sub> son los que se expresan más abundantemente en múltiples órganos linfoides y células del sistema inmunológico, incluidos el bazo, el timo, las amígdalas, la médula ósea, el páncreas y los mastocitos.

15

Los efectos psicotrópicos causados por  $\Delta^9$ -THC y otros agonistas no selectivos de CB están mediados por los receptores CB<sub>1</sub>. La activación del receptor CB<sub>1</sub> mediante la administración de un agonista de CB<sub>1</sub> produce una serie de efectos fisiológicos y conductuales indeseables. En el sistema nervioso central, la actuación del receptor CB<sub>1</sub> puede dar lugar a varios efectos psicotrópicos tales como euforia, sedación, catalepsia, paranoia, pánico y ansiedad. La activación de CB<sub>1</sub> también puede afectar de forma negativa a la función cognitiva, lo que conduce a pérdida de memoria a corto plazo, una mala función ejecutiva y a alteraciones del aprendizaje. La activación de CB<sub>1</sub> también produce efectos fisiológicos que se manifiestan fuera del sistema nervioso central tales como hipotermia, aumento de la frecuencia cardíaca, disminución de la presión arterial y sequedad de boca. Los efectos indeseables mediados por la activación de CB<sub>1</sub> pueden afectar negativamente a la utilidad para un paciente de cualquier medicación que muestre alguna capacidad para activar el receptor CB<sub>1</sub>. Los efectos indeseables resultantes de la activación del receptor CB<sub>1</sub> con un agonista de CB<sub>1</sub> se pueden bloquear, inhibir o prevenir mediante la administración de un antagonista selectivo o agonista inverso de CB<sub>1</sub>.

20

25

30

Varias líneas de evidencia avalan la aseveración de que los receptores CB<sub>2</sub> desempeñan un papel en la analgesia. Por ejemplo, Zimmer et al. han notificado que el agonista no selectivo de cannabinoide  $\Delta^9$ -THC retiene alguna eficacia analgésica en ratones defectivos en el receptor CB<sub>1</sub> (Zimmer, A., et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 1999, 96, 5780 - 5785). HU-308 es uno de los agonistas de CB<sub>2</sub> altamente selectivos identificados que provoca una respuesta antinociceptiva en el modelo de formalina en ratas del dolor persistente (Hanus, L., et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 1999, 96, 14228 - 14233). El ligando cannabinoide selectivo de CB<sub>2</sub> AM-1241 exhibe una sólida eficacia analgésica en modelos animales de dolor térmico agudo (Malan, T. P., et al., Pain, 2001, 93, 239 - 245; Ibrahim, M. M., et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 2005, 102(8), 3093 - 3098), dolor persistente (Hohmann, A. G., et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 2004, 308, 446 - 453), dolor inflamatorio (Nackley, A. G., et al., Neuroscience, 2003, 119, 747 - 757; Quartilho, A. et al., Anesthesiology, 2003, 99, 955 - 60) y dolor neuropático (Ibrahim, M. M., et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 2003, 100, 10529 - 10533). El agonista parcial selectivo de CB<sub>2</sub>, también conocido como L768242, es eficaz en modelos en roedores de dolor neuropático, incisional y dolor inflamatorio tanto crónico como agudo (Valenzano, K. J., et al., Neuropharmacology, 2005, 48, 658 - 672 y Clayton, N., et al., Pain, 2002, 96, 253 - 260). Los efectos analgésicos inducidos por estos ligandos selectivos de CB<sub>2</sub> se bloquean mediante los antagonistas de los receptores CB<sub>2</sub> y no de CB<sub>1</sub>.

35

40

45

Los receptores CB<sub>2</sub> están presentes en tejidos y tipos de células asociados con las funciones inmunitarias y el ARNm del receptor CB<sub>2</sub> se expresa en los linfocitos B humanos, células asesinas naturales, monocitos, neutrófilos y linfocitos T (Galiegue et al., Eur. J. Biochem., 1995, 232, 54 - 61). Estudios con ratones defectivos en CB<sub>2</sub> han sugerido un papel para los receptores CB<sub>2</sub> en la modulación del sistema inmunológico (Buckley, N. E., et al., Eur. J. Pharmacol. 2000, 396, 141 - 149). Aunque el desarrollo de las células inmunitarias u la diferenciación son similares en animales defectivos y salvajes, los efectos inmunosupresores de  $\Delta^9$ -THC están ausentes en ratones defectivos en el receptor CB<sub>2</sub>, lo que proporciona pruebas de la implicación de los receptores CB<sub>2</sub> en la inmunomodulación. Como dichos agonistas selectivos de CB<sub>2</sub> pueden ser útiles para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias, incluidas, entre otras, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, lupus sistémico, miastenia gravis, diabetes de tipo 1, síndrome del intestino irritable, psoriasis, artritis psoriásica y hepatitis; y trastornos relacionados con el sistema inmunológico incluidos, entre otros, rechazo del tejido en trasplantes de órganos, enteropatía sensible al gluten (enfermedad celíaca), asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfisema, bronquitis, síndrome de dificultad respiratoria aguda, alergias, rinitis alérgica, dermatitis y síndrome de Sjögren.

50

55

60

Las células de la microglía se consideran células inmunitarias del sistema nervioso central (SNC) donde regulan el inicio y progresión de respuestas inmunitarias. Están quiescentes y en reposo y tienen una morfología ramificada siempre que el SNC sea sano. Las microglía expresan diversos receptores que les permiten medir el SNC y responder a acontecimientos patológicos. Las agresiones o lesiones en el SNC conducen a la activación de las

65

microglías, que se caracteriza por varios cambios morfológicos que permiten responder a la lesión. Las ramificaciones se retraen y las microglías se transforman en células de tipo ameboides con función fagocítica. Pueden proliferar, rápidamente migrar al sitio de la lesión y producir y liberar citocinas, quimiocinas y componentes del complemento (Watkins L. R., et al., *Trends in Neuroscience*, 2001, 24(8), 450; Kreutzberg, G. W., *Trends Neurosci.*, 1996, 19, 312 - 318). La expresión del receptor CB<sub>2</sub> sobre la microglía depende del estado inflamatorio con niveles más altos de CB<sub>2</sub> encontrados en las microglías cebadas, en proliferación y migración con respecto a las microglías en reposo o completamente activadas (Carlisle, S. J., et al. *Int. Immunopharmacol.*, 2002, 2, 69). La neuroinflamación induce muchos cambios en la morfología de las células de la microglía y existe una regulación por aumento de los receptores CB<sub>2</sub> y otros componentes del sistema endocannabinoide. Es concebible que los receptores CB<sub>2</sub> pueden ser más sensibles a los efectos farmacológicos durante la neuroinflamación (Walter, L., Stella, N., *Br. J. Pharmacol.* 2004, 141, 775 - 785). Se ha observado neuroinflamación se produce en varias enfermedades neurodegenerativas e inducción de los receptores CB<sub>2</sub> de la microglía (Carrier, E. J., et al., *Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders*, 2005, 4, 657 - 665). Por tanto, los ligandos de CB<sub>2</sub> pueden ser clínicamente útiles para el tratamiento de la neuroinflamación.

La expresión del receptor CB<sub>2</sub> se ha detectado en células de la microglía perivasculares en el cerebelo humano normal y sano (Nunez, E., et al., *Synapse*, 2004, 58, 208 - 213). Las células perivasculares y las células inmunorreguladoras localizadas adyacentes a los vasos sanguíneos del SNC y, junto con la microglía y los astrocitos del parénquima, desempeñan un papel central en el mantenimiento de la homeostasis del SNC y la funcionalidad de la barrera hematoencefálica (Williams, K., et al., *Glia*, 2001, 36, 156 - 164). La expresión del receptor CB<sub>2</sub> también se ha detectado en células endoteliales cerebromicrovasculares, que representan un componente principal de la barrera hematoencefálica (Golech, S. A., et al., *Mol. Brain Res.*, 2004, 132, 87 - 92). En un reciente informe se demostró que la expresión del receptor CB<sub>2</sub> se regula por aumento en los cerebros de macacos con encefalitis inducida por el virus de la inmunodeficiencia de simios (Benito, C., et al., *J. Neurosci.* 2005, 25(10), 2530 - 2536). Por tanto, los compuestos que afectan a la señalización de CB<sub>2</sub> pueden proteger la barrera hematoencefálica y ser clínicamente útiles en el tratamiento de la neuroinflamación y diversos trastornos neuroinflamatorios, incluyendo encefalitis retroviral, que se produce con la infección del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en el SNC.

La esclerosis múltiple es una enfermedad mediada por el sistema inmunológico común del SNC donde la capacidad de las neuronas para conducir los impulsos se ve alterada por la desmielinización y los daños axonales. La desmielinización se produce como consecuencia de inflamación crónica y, en última instancia, conduce a una amplia gama de síntomas clínicos que fluctúan de forma impredecible y generalmente empeoran con la edad. Estos incluyen espasmos musculares dolorosos, temblores, ataxia, debilidad motora, disfunción del esfínter y dificultades para hablar (Pertwee, R. G., *Pharmacol. Ther.* 2002, 95, 165 - 174). El receptor CB<sub>2</sub> está regulado por aumento sobre las células de microglía activadas durante la encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE) (Maresz, K., et al., *J. Neurochem.* 2005, 95, 437 - 445). La activación del receptor CB<sub>2</sub> previene el reclutamiento de células inflamatorias tales como leucocitos en el SNC ((Ni, X., et al., *Multiple Sclerosis*, 2004, 10, 158 - 164) y desempeña un papel protector en la desmielinización progresiva experimental (Arevalo-Martin, A.; et al., *J. Neurosci.*, 2003, 23(7), 2511 - 2516), que son características críticas en el desarrollo de la esclerosis múltiple. Por tanto, los agonistas del receptor CB<sub>2</sub> pueden proporcionar un tratamiento único para patologías desmielinizantes.

La enfermedad de Alzheimer es un trastorno neurodegenerativo crónico que representa la forma más frecuente de demencia en ancianos. En estudios recientes se ha revelado que la expresión del receptor CB<sub>2</sub> está regulada por aumento en la microglía asociada con placas neuríticas de cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer (Benito, C., et al., *J. Neurosci.*, 2003, 23(35), 11136 - 11141). In vitro, el tratamiento con el agonista de CB<sub>2</sub> JWH-133 abolió la activación y la neurotoxicidad de la microglía inducidas por  $\beta$ -amiloide, efectos que se pueden bloquear mediante el agonista de CB<sub>2</sub> SR144528 (Ramirez, B. G., et al., *J. Neurosci.* 2005, 25(8), 1904 - 1913). Los agonistas de CB<sub>2</sub> que poseen acciones antiinflamatorias y neuroprotectoras pueden tener utilidad clínica en el tratamiento de neuroinflamación y para proporcionar neuroprotección asociada con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer

Los niveles aumentados de expresión del receptor CB<sub>2</sub> se observan en el tejido de enfermedad intestinal inflamatoria humana (Wright, K., et al., *Gastroenterology*, 2005, 129, 437 - 453). La activación de los receptores CB<sub>2</sub> reestableció el tránsito gastrointestinal normal después de inducir la inflamación endotóxica en ratas (Mathison, R., et al., *Br. J. Pharmacol.* 2004, 142, 1247 - 1254). La activación de los receptores CB<sub>2</sub> en una línea de células epiteliales colónicas humanas inhibió la liberación de interleucina-8 (IL-8) inducida por TNF- $\alpha$  (Ihenetu, K. et al., *Eur. J. Pharmacol.* 2003, 458, 207 - 215). Las quimiocinas liberadas del epitelio, tal como la quimioatrayente de neutrófilos IL-8, están reguladas por aumento en la enfermedad intestinal inflamatoria (Warhurst, A. C., et al., *Gut*, 1998, 42, 208 - 213). Por tanto, la administración de agonistas de receptores CB<sub>2</sub> representa un nuevo abordaje para el tratamiento de la inflamación y trastornos del tracto gastrointestinal incluyendo, entre otros, enfermedad intestinal inflamatoria, síndrome del intestino irritable, diarrea secretora, colitis ulcerosas, enfermedad de Crohn y enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE).

La fibrosis hepática se produce como respuesta a lesiones hepáticas crónicas y, en última instancia, conduce a cirrosis, que es un problema de salud mundial debido a complicaciones acompañantes graves de hipertensión portal, insuficiencia hepática y carcinoma hepatocelular (Lotersztajn, S., et al., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2005, 45, 605 - 628). Aunque los receptores CB<sub>2</sub> no eran detectables en el hígado humano normal, los receptores CB<sub>2</sub> se

expresaron en muestras de biopsia hepática de pacientes con cirrosis. La activación de los receptores CB<sub>2</sub> en miofibroblastos hepáticos cultivados produjo potentes efectos antifibrogénicos (Julien, B., et al., *Gastroenterology*, 2005, 128, 742 - 755). Además, los ratones defectivos en CB<sub>2</sub> desarrollaron una fibrosis hepática potenciada tras la administración crónica de tetracloruro de carbono con respecto a los ratones de tipo salvaje. La administración de agonistas del receptor CB<sub>2</sub> representa un abordaje único para el tratamiento de la fibrosis hepática.

Los receptores CB<sub>2</sub> están implicados en los mecanismos neuroprotectores y antiinflamatorios inducidos por el antagonista del receptor de la interleucina 1 (IL-1ra) (Molina-Holgado, F., et al., *J. Neurosci.*, 2003, 23(16), 6470 - 6474). IL-1ra es una importante citocina antiinflamatoria que protege contra agresiones cerebrales isquémicas, excitotóxicas y traumáticas. Los receptores CB<sub>2</sub> desempeñan un papel en la mediación de estos efectos neuroprotectores, lo que indica que los agonistas de CB<sub>2</sub> pueden ser útiles en el tratamiento de la lesión cerebral traumática, el ictus y en la mitigación del daño cerebral.

La tos es un síntoma dominante y persistente de muchas enfermedades pulmonares inflamatorias, incluyendo asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, infecciones virales y fibrosis pulmonar (Patel, H. J., et al., *Brit. J. Pharmacol.*, 2003, 140, 261 - 268). Estudios recientes han proporcionado indicios de la existencia de receptores CB<sub>2</sub> neuronales en las vías respiratorias y han demostrado un papel de la activación del receptor CB<sub>2</sub> en la supresión de la tos (Patel, H. J., et al., *Brit. J. Pharmacol.*, 2003, 140, 261 - 268 y Yoshihara, S., et al., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2004, 170, 941 - 946). Los ligandos de cannabinoides tanto exógenos como endógenos inhiben la activación de las fibras C a través de los receptores CB<sub>2</sub> y reducen las reacciones inflamatorias neurogénicas en los tejidos de las vías respiratorias (Yoshihara, S., et al., *J. Pharmacol. Sci.* 2005, 98(1), 77 - 82; Yoshihara, S., et al., *Allergy and Immunology*, 2005, 138, 80 - 87). Por tanto, los agonistas selectivos de CB<sub>2</sub> pueden tener utilidad como agentes antitusivos para el tratamiento de la inflamación pulmonar, la tos crónica y diversas enfermedades inflamatorias incluídas, entre otras, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y fibrosis pulmonar.

La arterosclerosis es una enfermedad inflamatoria crónica y es una causa principal de cardiopatía e ictus. Se han detectado receptores CB<sub>2</sub> en placas ateroscleróticas tanto de ser humano como de ratón. La administración de dosis bajas de TH en ratones defectivos en apolipoproteína E ralentizó la progresión de las lesiones ateroscleróticas y estos efectos se inhibieron con el antagonista selectivo de CB<sub>2</sub> SR144528 (Steffens, S., et al., *Nature*, 2005, 434, 782 - 786). Por tanto, los compuestos con actividad en el receptor CB<sub>2</sub> pueden ser clínicamente útiles para el tratamiento de la arterosclerosis.

Los receptores CB<sub>2</sub> se expresan sobre células malignas del sistema inmunológico y apuntar a los receptores CB<sub>2</sub> para inducir apoptosis puede constituir un nuevo abordaje al tratamiento de las neoplasias malignas del sistema inmunológico. Los agonistas selectivos de CB<sub>2</sub> inducen regresión de los gliomas malignos (Sanchez, C., et al., *Cancer Res.*, 2001, 61, 5784 - 5789), carcinomas de piel (Casanova, M. L., et al., *J. Clin. Invest.*, 2003, 111, 43 - 50), y linfomas (McKallip, R. J., et al., *Blood*, 2002, 15(2), 637 - 634). Por tanto, los agonistas de CB<sub>2</sub> pueden tener utilidad como agentes anticancerosos contra tumores de origen inmunitario.

A la luz de estos signos, los compuestos que son agonistas selectivos de los receptor es CB<sub>2</sub> sobre los receptores CB<sub>1</sub> son potenciales agentes terapéuticos para el tratamiento de diversos trastornos, incluidos dolor inflamatorio, trastornos inflamatorios, trastornos inmunitarios, trastornos neurológicos, neurodegeneración, cáncer, trastornos respiratorios, trastornos cardiovasculares, osteoporosis, obesidad y diabetes.

El alivio del dolor se produce a dosis de un agonista selectivo de CB<sub>2</sub> que no cause o pueda causar en medida muy limitada efectos indeseables asociados con la activación de los receptores CB<sub>1</sub>. No obstante, a dosis más altas, las concentraciones farmacológicas de un agonista selectivo de CB<sub>2</sub> pueden alcanzar niveles lo suficientemente altos como para comenzar a activar los receptores CB<sub>1</sub>, debido a alguna débil actividad residual sobre CB<sub>1</sub> del agente selectivo de CB<sub>2</sub> que produce ataxia y catalepsia (Valenzano et al., *Neuropharmacology*, Vol. 48 páginas 658 - 672, 2005). Por tanto, a dosis más altas de los agonistas selectivos de CB<sub>2</sub> se puede comenzar a mostrar los efectos indeseables mencionados anteriormente como consecuencia de la activación residual de CB<sub>1</sub>.

A la luz de las pruebas mencionadas anteriormente, una terapia de combinación que coadministre un agonista selectivo de CB<sub>2</sub> y un antagonista selectivo o agonista inverso de CB<sub>1</sub> puede proporcionar el beneficio terapéutico de aliviar el dolor a través de la activación de los receptores CB<sub>2</sub> al tiempo que previene de forma concomitante los efectos adversos indeseables causados por la débil activación residual de los receptores CB<sub>1</sub>. Esta terapia de combinación proporciona un método más seguro, más tolerable y más eficaz de tratar el dolor o cualquier otro trastorno mediado por los receptores CB<sub>2</sub> con una menor incidencia de riesgo de abuso.

## Breve descripción de las figuras

La Figura 1A muestra el efecto de la (Z)-N-(5-terc-butil-3-butiltiazol-2(3H)-iliden)-5-cloro-2-metoxibenzamida, un agonista selectivo de CB<sub>2</sub>, en un modelo de dolor por incisión cutánea.

La Figura 1B muestra el efecto de la (Z)-N-(3-(2-metoxietil)-4,5-dimetiltiazol-2-(3H)-iliden)-2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarboxamida, un agonista selectivo de CB<sub>2</sub>, en un modelo de dolor por incisión cutánea.

La Figura 2 muestra el efecto de la coadministración de (Z)-N-(5-terc-butil-3-butiltiazol-2(3H)-iliden)-5-cloro-2-metoxibenzamida (30 µmol/kg, por vía intraperitoneal), un agonista de CB<sub>2</sub>, y rimonabant (30 µmol/kg, por vía intraperitoneal), en un modelo de dolor por incisión cutánea.

La Figura 3 representa el efecto de la coadministración de (Z)-N-(3-(2-metoxietil)-4,5-dimetiltiazol-2-(3H)-iliden)-2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarboxamida (µmol/kg, por vía intraperitoneal), un agonista selectivo de CB<sub>2</sub>, y rimonabant (30 µmol/kg, por vía intraperitoneal), sobre la actividad motora.

La Figura 4 muestra el efecto de la coadministración de (Z)-N-(5-terc-butil-3-butiltiazol-2(3H)-iliden)-5-cloro-2-metoxibenzamida (30 µmol/kg, por vía intraperitoneal), un agonista selectivo de CB<sub>2</sub>, y rimonabant (30 µmol/kg, por vía intraperitoneal), sobre la actividad motora.

La Figura 5 resume los efectos de la coadministración de (Z)-N-(3-(2-metoxietil)-4,5-dimetiltiazol-2-(3H)-iliden)-2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarboxamida (30 µmol/kg, por vía intraperitoneal), un agonista selectivo de CB<sub>2</sub>, y rimonabant (30 µmol/kg, por vía intraperitoneal), sobre la fuerza de agarre.

La Figura 6 muestra los efectos sobre la presión arterial media después de la coadministración de (Z)-N-(3-(2-metoxietil)-4,5-dimetiltiazol-2-(3H)-iliden)-2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarboxamida (1 mg/kg, por vía intravenosa), un agonista selectivo de CB<sub>2</sub>, y rimonabant (3,2 mg/kg por vía intravenosa).

La Figura 7 muestra la comparación de la eficacia y los efectos secundarios de la (Z)-N-(5-terc-butil-3-butiltiazol-2(3H)-iliden)-5-cloro-2-metoxibenzamida, un agonista selectivo de CB<sub>2</sub>, sola y en combinación con rimonabant. Incisión en la piel se refiere al modelo de dolor por incisión cutánea postoperatoria. MAL se refiere al modelo de actividad locomotora.

### Descripción detallada de la invención

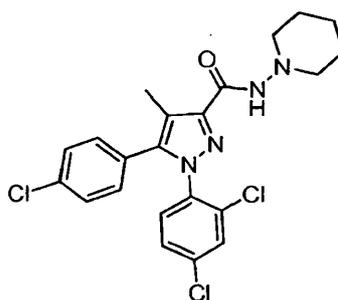
La presente solicitud se refiere a un método para tratar a un sujeto que sufre una afección tratable con un agonista selectivo de CB<sub>2</sub> mediante el uso de una terapia de combinación que comprende administrar al sujeto un agonista de los receptores CB<sub>2</sub> en una cantidad eficaz para obtener un efecto terapéutico, y un ligando de los receptores CB<sub>1</sub> en una cantidad eficaz para bloquear cualquier efecto adverso mediado por CB<sub>1</sub> sin antagonizar el efecto terapéutico del agonista selectivo de CB<sub>2</sub>. El agonista selectivo de CB<sub>2</sub> es (Z)-N-(5-terc-butil-3-butiltiazol-2(3H)-iliden)-5-cloro-2-metoxibenzamida o (Z)-N-(3-(2-metoxietil)-4,5-dimetiltiazol-2(3H)-iliden)-2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarboxamida. El ligando selectivo de los receptores cannabinoides CB<sub>1</sub> es rimonabant. También se pretende que la terapia de combinación que comprende el agonista de los receptores cannabinoides CB<sub>2</sub> y el ligando de los receptores CB<sub>1</sub> puede estar representada por la administración separada de una composición farmacéutica que contiene el agonista selectivo de los receptores cannabinoides CB<sub>2</sub> y una composición farmacéutica que contiene el ligando de los receptores CB<sub>1</sub>, comprendiendo además cada composición farmacéutica un vehículo terapéuticamente aceptable. Por otro lado, la terapia de combinación que comprende el agonista de los receptores cannabinoides CB<sub>2</sub> y el ligando de los receptores CB<sub>1</sub> puede estar representada por una única composición farmacéutica que comprende ambos compuestos y un vehículo terapéuticamente aceptable, donde el ligando de los receptores CB<sub>1</sub> puede ser un antagonista de los receptores CB<sub>1</sub> o un agonista inverso de los receptores CB<sub>1</sub>.

Varias líneas de evidencia avalan la aseveración de que los receptores CB<sub>2</sub> se asocian con diversas células y tejidos y que tienen un papel en muchos mecanismos fisiológicos que hacen que los agonistas selectivos de los receptores CB<sub>2</sub> sean importantes agentes terapéuticos para una gran variedad de trastornos.

Los efectos analgésicos inducidos por los agonistas selectivos de CB<sub>2</sub> se bloquean mediante antagonistas de los receptores CB<sub>2</sub> y no de CB<sub>1</sub>. Los agonistas de CB<sub>2</sub> son útiles en el tratamiento de estados de dolor que comprenden dolor neuropático, dolor inflamatorio o dolor nociceptivo por trastornos tales como cáncer, VIH, esclerosis múltiple, neuropatía diabética, neuralgia posherpética, artritis, artrosis, artritis reumatoide, procedimientos quirúrgicos etc. Alguna activación residual de los receptores CB<sub>1</sub> puede inducir efectos secundarios indeseados tales como ataxia, catalepsia y euforia. La administración o combinación de un agonista selectivo de los receptores CB<sub>2</sub> con un antagonista/agonista inverso selectivo de los receptores CB<sub>1</sub> proporciona un modo de inducir analgesia sin el riesgo de los efectos secundarios indeseados, que incluye tolerancia, dependencia, adicción, sedación, euforia, disforia, alteración de la memoria, alucinación, depresión, sequedad de boca, aumento de la frecuencia cardíaca, mareo y dolor de cabeza, entre otros.

Las moléculas de antagonistas y agonistas inversos selectivos de CB<sub>1</sub> son bien conocidos por los expertos en la técnica. Ejemplos de antagonistas y agonistas inversos selectivos de CB<sub>1</sub> representativos se pueden encontrar en las siguientes referencias bibliográficas: Muccioli, Expert Opin. Ther. Pat. (2006) 16, pp 1405 - 1423; Barth, Ann. Rep. Med. Chem. (2005), 40, pp 103 - 118; Hertzog, Expert Opin. Ther. Pat. (2004) 14, pp 1435 - 1452.

El rimonabant, también conocido como SR141716A y 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidin-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida, es el antagonista/agonista inverso de CB<sub>1</sub> que se contempla como parte de la invención.



rimonabant

Las moléculas agonistas de CB<sub>2</sub> son bien conocidos por los expertos en la técnica. Ejemplos de agonistas de CB<sub>2</sub> representativos se pueden encontrar en la siguiente referencia bibliográfica: Cheng, Expert Opin. Invest. Drugs Vol. 16, páginas 951 - 965 (2007).

Para el fin de la presente invención, los agonistas selectivos de CB<sub>2</sub> son (Z)-N-(5-terc-butil-3-butiltiazol-2(3H)-iliden-5-cloro-2-metoxibenzamida y (Z)-N-(3-(2-metoxietil)-4,5-dimetiltiazol-2(3H)-iliden-2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarboxamida.

Un agonista de CB<sub>2</sub> se define en el presente documento como una molécula que se une al receptor CB<sub>2</sub> y causa la activación del receptor como se ha medido en uno o más ensayos diseñados para detectar dicha activación del receptor. Dichos ensayos pueden ser ensayos *in vivo* o *in vitro*. Los ensayos *in vitro* típicos para medir la activación de los receptores CB<sub>2</sub> incluyen, entre otros, la medición de la acumulación de AMP cíclico (Mukherjee, Eur. J. Pharmacol. Vol. 505, páginas 1 - 9, 2004), la medición del flujo de Ca<sup>2+</sup> usando un lector de placas de imagen fluorométrica (Mukherjee, Eur. J. Pharmacol. Vol. 505, páginas 1 - 9, 2004), la medición de la unión de GTPγS (MacLennan et al., British J. Pharm. Vol. 124 páginas 619 - 622, 1998) y la medición de ERK o MAP cinasa (Yao, Br. J. Pharmacol. Vol. 149, páginas 145 - 154, 2006). Los ensayos *in vivo* para detectar la activación del receptor CB<sub>2</sub> incluyen la medición de la actividad en un modelo de dolor tras la administración de un compuesto de ensayo, invirtiéndose dicha actividad mediante el pretratamiento con un antagonista o agonista inverso selectivo de CB<sub>2</sub>. Este protocolo es bien conocido por los expertos en la técnica y se pueden encontrar en la siguiente lista de referencias: Clayton, Pain Vol. 96, páginas 253 - 260, 2002; Ibrahim, Proc. Natl. Acad. Sci. Vol. 100, páginas 10529 - 10533, 2003; LaBuda, Eur. J. Pharmacol. Vol. 527, páginas 172 - 174, 2005. Los modelos de dolor usados para detectar la activación de los receptores CB<sub>2</sub> pueden ser cualquiera de los descritos en el presente documento o conocidos por los expertos en la técnica. Como se define en el presente documento, un agonista de CB<sub>2</sub> no tiene que mostrar activación de los receptores CB<sub>2</sub> en un ensayo tanto *in vitro* como *in vivo*, pero deben mostrar actividad en al menos un ensayo *in vitro* o *in vivo* diseñado para medir dicha actividad. En determinadas condiciones de ensayo artificiales, puede parecer que un agonista de los receptores CB<sub>2</sub>, tal como AM 1241, no activa los receptores CB<sub>2</sub> *in vitro* (Yao, Br. J. Pharmacol. Vol. 149, páginas 145 - 154, 2006), aunque todavía puede activar los receptores CB<sub>2</sub> *in vivo* como se mide usando uno de los ensayos *in vivo* descritos anteriormente.

Un agonista de CB<sub>2</sub> puede poseer varios grados de selectividad respecto a la actividad en el receptor CB<sub>1</sub>, como se mide en ensayos biológicos. En el presente documento, un agonista selectivo de CB<sub>2</sub> se define como un ligando que se une al, o activa el, receptor CB<sub>2</sub> con una potencia al menos 100 veces o más mayor que con la que se une al, o activa el, receptor CB<sub>1</sub>. No es necesario que una molécula se considere selectiva en ensayos tanto de unión como funcionales (activación) para ser un agonista selectivo de CB<sub>2</sub>. La potencia de unión se notifica de forma rutinaria como la K<sub>i</sub>, de modo que valor menor de K<sub>i</sub> equivale a mayor potencia. Por tanto, un agonista selectivo de CB<sub>2</sub> posee una K<sub>i</sub> de unión a CB<sub>2</sub> que es al menos aproximadamente 100 veces o más menor que su K<sub>i</sub> de unión a CB<sub>1</sub>. La potencia para activar un receptor también se notifica de forma rutinaria como la CE<sub>50</sub>, de modo que el valor de CE<sub>50</sub> menor equivale a una potencia mayor. El valor de CE<sub>50</sub> también se asocia con una respuesta máxima medida (eficacia) en un ensayo con respecto a un patrón de referencia. CP55.940 es un agonista estándar de referencia uso habitual en los receptores CB<sub>2</sub> y CB<sub>1</sub>, y su respuesta máxima se fija en un 100 %. Por tanto, los compuestos de prueba pueden demostrar una eficacia completa, parcial o ausente sustancialmente con respecto a CP55.940. La eficacia completa representa una respuesta superior o igual a aproximadamente un 70 %. La eficacia parcial representa una respuesta de aproximadamente 20 - 70 %. Ausencia sustancial de eficacia representa una respuesta de menos de aproximadamente 20 %. Dado que el valor de CE<sub>50</sub> es la concentración aproximada que da una respuesta del 50 % con respecto a la máxima para el agente de prueba concreto, un agente de prueba con una eficacia intrínseca menor puede dar un valor de CE<sub>50</sub> menor en comparación con un agente que posee una eficacia intrínseca más alta. Al tratar con los agentes de prueba que poseen eficacias intrínsecas sustancialmente diferentes en los receptores CB<sub>2</sub> y CB<sub>1</sub> puede no ser posible establecer el grado de selectividad por CB<sub>2</sub> simplemente comparando los valores de CE<sub>50</sub>, ya que cada uno de ellos puede basarse en máximas sustancialmente diferentes. Por tanto, no se puede realizar un cálculo matemático significativo de la selectividad por CB<sub>2</sub> comparando las CE<sub>50</sub> de CB<sub>2</sub> y CB<sub>1</sub> para un agente de prueba representativo que potencialmente activa el receptor CB<sub>2</sub> con una eficacia completa y activa débilmente el receptor CB<sub>1</sub> sin una eficacia sustancial. Por otro lado, un experto en la técnica generalmente apreciaría dicho compuesto como un agonista selectivo de CB<sub>2</sub>. Por tanto, un agonista selectivo de

CB<sub>2</sub> produce un grado concreto de activación del receptor CB<sub>2</sub> a una concentración de al menos aproximadamente 100 veces o más menor que la concentración para provocar sustancialmente el mismo grado de activación del receptor CB<sub>1</sub> con respecto a un agonista estándar de referencia como CP55.940. En otras palabras, la concentración para activar el receptor CB<sub>2</sub> receptor es al menos aproximadamente 100 veces o más menor que la concentración equieficaz para activar el receptor CB<sub>1</sub>. La concentración equieficaz hace referencia a la concentración que produce sustancialmente el mismo grado de activación del receptor CB<sub>1</sub> que del receptor CB<sub>2</sub>, donde este grado de activación podría variar del 20 % al 100 %. Asimismo, un compuesto que activa parcialmente o completamente el receptor CB<sub>2</sub> y no activa sustancialmente el receptor CB<sub>1</sub> se considera un agonista selectivo de CB<sub>2</sub>.

Para los fines de la presente invención, un agonista selectivo de CB<sub>2</sub> posee una K<sub>i</sub> de unión a CB<sub>2</sub> inferior o igual a 100 nM, preferentemente inferior o igual a 10 nM y una relación de selectividad de 100 o más respecto al receptor CB<sub>1</sub>.

El agonista selectivo de CB<sub>2</sub> de la presente invención también posee una K<sub>i</sub> de unión a CB<sub>2</sub> inferior o igual a 10 nM y una relación de selectividad de 100 o más respecto al receptor CB<sub>1</sub>.

Para los fines e la invención, un agonista selectivo de CB<sub>2</sub> posee una K<sub>i</sub> de unión a CB<sub>2</sub> inferior o igual a 1 nM y una relación de selectividad de 100 o más, preferentemente 1.000, más preferentemente 10.000, respecto al receptor CB<sub>1</sub>.

Para determinar la selectividad (K<sub>i</sub>) de los compuestos de la presente solicitud para los receptores CB<sub>2</sub> respecto a los receptores CB<sub>1</sub> se realizan ensayos de unión a radioligando, que se describen en el presente documento.

Para los ensayos de unión de radioligando a CB<sub>2</sub>, se cultivaron células HEK293 que expresan de forma estable los receptores CB<sub>2</sub> humanos hasta que se formó una monocapa confluyente. En pocas palabras, las células se recogieron y homogeneizaron en tampón TE (Tris-HCl 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM y EDTA 1 mM) usando un politrón para 2 descargas de 10 segundos en presencia de inhibidores de la proteasa, seguido de centrifugación a 45.000 xg durante 20 minutos. El sedimento de membrana final se volvió a homogeneizar en tampón de almacenamiento (Tris-HCl 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM y EDTA 1 mM y 10 % de sacarosa) y se congeló a -78 °C hasta su uso. Las reacciones de unión de saturación se iniciaron mediante la adición de la preparación de membrana (concentración de proteínas de 5 µg/pocillo para CB<sub>2</sub> humanos) en pocillos de una placa de pocillos profundos que contienen [<sup>3</sup>H]CP-55.940 (120 Ci/mmol, un agonista no selectivo de CB disponible comercialmente de Tocris) en tampón de ensayo (Tris 50 mM, EDTA 2,5 mM, MgCl<sub>2</sub> 5 mM y 0,5 mg/ml BSA sin ácidos grasos, pH 7,4). Tras 90 minutos de incubación a 30 °C se detuvo la reacción de unión mediante la adición de 300 µl/pocillo de tampón de ensayo frío mediante filtración al vacío rápida a través de placas de filtro UniFilter-96 GF/C (previamente empapadas en 1 mg/ml de BSA durante 2 horas). La actividad de unión se contó en una TopCount usando Microscint-20. Se realizaron experimentos de saturación con doce concentraciones de [<sup>3</sup>H]CP-55.940 que variaban de 0,01 a 8 nM. Se realizaron experimentos de competición con [<sup>3</sup>H]CP-55.940 0,5 nM y cinco concentraciones de ligandos de desplazamiento en las concentraciones seleccionadas del intervalo de 0,01 nM a 10 µM. La adición de CP-55.940 sin marcar 10 µM (Tocris, Ellisville, MO) se usó para evaluar la unión inespecífica.

Para el ensayo de unión de radioligando a CB<sub>1</sub>. Las membranas de CB<sub>1</sub> humano de HEK293 se adquirieron en Perkin Elmer. La unión se inició mediante la adición de membranas (8 - 12 µg por pocillo) en los pocillos (Scienceware 96-well DeepWell plate, VWR, West Chester, PA) que contienen [<sup>3</sup>H]CP-55.940 (120 Ci/mmol, Perkin Elmer, Boston, MA) y un volumen suficiente de tampón de ensayo (Tris 50 mM, EDTA 2,5 mM, MgCl<sub>2</sub> 5 mM y 0,5 mg/ml de BSA sin ácidos grasos, pH 7,4) para llevar el volumen total hasta 250 µl. Tras la incubación (30 °C durante 90 minutos), la unión se detuvo mediante la adición de 300 µl por pocillo de tampón de ensayo frío y filtración al vacío rápida (FilterMate Cell Harvester, Perkin Elmer, Boston, MA) a través de una placa de filtro UniFilter-96 GF/C (Perkin Elmer, Boston, MA) (previamente empapadas en 0,3 % de PEI al menos 3 horas), seguido de cinco lavados con tampón de ensayo frío. La actividad de unión se contó en el TopCount usando Microscint-20 (ambos de Perkin Elmer, Boston, MA). Los experimentos de competición se realizaron con [<sup>3</sup>H]CP-55.940 1 nM y cinco concentraciones (1 nM a 10 µM) de ligandos de desplazamiento. La adición de CP-55.940 sin marcar 10 µM (Tocris, Ellisville, MO) se usó para evaluar la unión inespecífica.

Por tanto, los compuestos usados en los ejemplos de la presente solicitud, preferentemente se unen a los receptores CB<sub>2</sub>, son ligandos selectivos del receptor CB<sub>2</sub>, como indican los valores relativos de K<sub>i</sub> para cada uno de los receptores. La (Z)-N-(5-terc-butil-3-butiltiazol-2(3H)-iliden)-5-cloro-2-metoxibenzamida (compuesto A), un agonista selectivo de CB<sub>2</sub>, tiene una K<sub>i</sub> para los receptores CB<sub>2</sub> de 1,8 nM, y una K<sub>i</sub> para los receptores CB<sub>1</sub> de 3670 nM; (Z)-N-(3-(2-metoxietil)-4,5-dimetiltiazol-2(3H)-iliden)-2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarboxamida (compuesto B), el otro agonista selectivo de CB<sub>2</sub> usado en la presente solicitud, tiene una K<sub>i</sub> para los receptores CB<sub>2</sub> de 0,6 nM, y una K<sub>i</sub> para los receptores CB<sub>1</sub> de 273 nM.

En términos de eficacia, se pretende que el agonista selectivo de CB<sub>2</sub> de la presente invención activa parcialmente o completamente el receptor CB<sub>2</sub> como se ha definido en el presente documento.

En términos de eficacia, se pretende que el agonista selectivo de CB<sub>2</sub> de la presente invención posee una CE<sub>50</sub> de CB<sub>2</sub> inferior o igual a 100 nM, preferentemente 10 nM, y que active completamente el receptor CB<sub>1</sub> con una CE<sub>50</sub> de 10.000 nM o mayor. Adicionalmente, el agonista selectivo de CB<sub>2</sub> posee una CE<sub>50</sub> de CB<sub>2</sub> inferior o igual a 10 nM y activa completamente el receptor CB<sub>1</sub> con una CE<sub>50</sub> de 1.000 nM o mayor.

5 Se pretende que el agonista selectivo de CB<sub>2</sub> de la invención posea una CE<sub>50</sub> de CB<sub>2</sub> inferior o igual a 1 nM y active completamente el receptor CB<sub>1</sub> con una CE<sub>50</sub> de 100 nM o mayor, preferentemente 1.000 nM, más preferentemente 10.000 nM.

10 El agonista selectivo de CB<sub>2</sub> de la invención posee una CE<sub>50</sub> de CB<sub>2</sub> inferior o igual a 100 nM y activa parcialmente el receptor CB<sub>1</sub>, donde la concentración equieficaz para activar el receptor CB<sub>1</sub> es al menos 100 veces superior a la que activa el receptor CB<sub>2</sub>. También se incluyen en la presente invención agonistas selectivos de CB<sub>2</sub> de que poseen una CE<sub>50</sub> de CB<sub>2</sub> inferior o igual a 10 nM y que activan parcialmente el receptor CB<sub>1</sub>, donde la concentración equieficaz para activar el receptor CB<sub>1</sub> es al menos de 100 a 1.000 veces superior a la que activa el receptor CB<sub>2</sub>.

15 En una realización de la invención, un agonista selectivo de CB<sub>2</sub> posee una CE<sub>50</sub> de CB<sub>2</sub> inferior o igual a 1 nM y activa parcialmente el receptor CB<sub>1</sub>, donde la concentración equieficaz para activar el receptor CB<sub>1</sub> es al menos 100 veces, preferentemente 1.000, más preferentemente 10.000 superior a la que activa el receptor CB<sub>2</sub>. Para los fines de la invención, un agonista selectivo de CB<sub>2</sub> posee una CE<sub>50</sub> de CB<sub>2</sub> inferior o igual a 100 nM, preferentemente inferior o igual a 10 nM, más preferentemente inferior o igual a 1 nM, y no activa sustancialmente el receptor CB<sub>1</sub> *in vitro*.

20 Para los fines de la presente invención, un agonista selectivo de CB<sub>2</sub> produce una respuesta en un modelo de dolor *in vivo* de 30 % o más. Dicha respuesta se puede inhibir mediante un agonista de CB<sub>2</sub> o mediante un agonista inverso de CB<sub>2</sub>, pero no mediante un agonista de CB<sub>1</sub> o un agonista inverso de CB<sub>1</sub>.

25 Un antagonista selectivo de CB<sub>1</sub> o agonista inverso selectivo de CB<sub>1</sub> se define en el presente documento como una molécula que inhibe la activación del receptor CB<sub>1</sub> o, como alternativa, reduce el nivel basal de actividad del receptor CB<sub>1</sub>. Los ensayos para detectar la actividad del antagonista y el agonista inverso de CB<sub>1</sub> son bien conocidos por los expertos en la técnica y se puede encontrar una lista de dichos ensayos en las referencias siguientes: Pertwee, Life Sci. Vol. 76, páginas 1307 - 1324, 2005; Muccioli, Curr. Med. Chem. Vol. 12, páginas 1361 - 1394, 2005.

30 Un antagonista de CB<sub>2</sub> o agonista inverso de CB<sub>2</sub> se define en el presente documento como una molécula que inhibe la activación del receptor CB<sub>2</sub> o, como alternativa, reduce el nivel basal de actividad del receptor CB<sub>2</sub>. Los ensayos para detectar la actividad del antagonista y el agonista inverso de CB<sub>2</sub> son bien conocidos por los expertos en la técnica y dichos ensayos se encuentran o se hace referencia a ellos en las referencias siguientes: Rinaldi-Carmona, J. Pharmacol. Exp. Ther. Vol. 284, páginas 644 - 650, 1998; Muccioli, Exp. Opin. Ther. Pat. Vol. 16, páginas 1405 - 1423, 2006; Raitio, Curr. Med. Chem. Vol.12, páginas 1217 - 1237, 2005.

35 Antagonistas/agonistas inversos de CB<sub>2</sub> típicos que se pueden usar para demostrar la activación del receptor CB<sub>2</sub> *in vivo* incluyen SR144528, también conocido como {N-[(1S)-endo-1,3,3-trimetilbicyclo[2.2.1]heptan-2-il]-5-(4-cloro-3-metilfenil)-1-(4-metilbencil)-pirazol-3-carboxamida} y AM630 también conocido como (6-yodo-2-metil-1-(2-morfolinoetil)-1H-indol-3-il)(4-metoxifenil)metanona.

45 Existen varios métodos para analizar la eficacia de los compuestos en el alivio del dolor, entre los cuales se incluyen el modelo de incisión de dolor postoperatorio, el modelo de ligadura espinal de dolor neuropático y la hipersensibilidad mecánica secundaria inducida con capsaicina.

50 Se usaron ratas macho adultas Sprague-Dawley (250 - 300 g de peso corporal, Charles River Laboratories, Portage, MI). El Comité institucional para el cuidado y uso de animales (IACUC) de Abbott Laboratorios aprobó los protocolos para experimentación y manipulación de animales. Para todos los procedimientos quirúrgicos, se mantuvo a los animales con anestesia con halotano (4 % para inducir, 2 % para mantener) y los sitios de incisión se esterilizaron usando una solución al 10 % de povidona-yodo antes y después de las cirugías.

55 Un modelo de incisión de la piel de dolor postoperatorio se produjo usando los procedimientos descritos en Brennan et al., 1996, Pain, 64, 493. Se anestesió a todas las ratas con isoflurano liberado a través de una fosa nasal. Se realizó una incisión en la pata trasera derecha siguiendo los procedimientos de esterilización. El lado plantar de la pata trasera izquierda se introdujo a través de un orificio en una cinta de plástico estéril. Se realizó una incisión longitudinal de 1 cm a través de la piel y la fascia del lado plantar de la pata trasera, comenzando a 0,5 cm del borde proximal del talón y extendiéndola hacia los dedos, el músculo plantar se elevó y se realizó una incisión longitudinal dejando los puntos de origen e incisión del músculo intactos. Después, la piel se cosió con dos suturas de colchonero (5-0 nylon). Después de la cirugía se realizó un seguimiento de los animales para su recuperación durante 2 horas, tiempo tras el cual se evaluó la alodinia táctil como se describe más adelante. Para evaluar los efectos antinociceptivos, se administró a los animales por vía intraperitoneal vehículo o el compuesto de prueba 90 minutos después de la incisión en la piel y la alodinia táctil se evaluó normalmente 30 minutos después de la administración del compuesto.

La alodinia táctil se midió usando filamentos de von Frey calibrados (Stoelting, Wood Dale, IL) como se describe en Chaplan, S.R., F.W. Bach, J.W. Porgrel, J.M. Chung y T.L. Yaksh, 1994, Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw, J. Neurosci. Methods, 53, 55. Se introdujo a las ratas en jaulas de plástico individuales invertidas (20 x 12,5 x 20 cm) encima de una rejilla de malla de alambre suspendida y se aclimataron a las cámaras de prueba durante 20 minutos. Los filamentos de von Frey se aplicaron perpendicularmente desde debajo de la jaula a través de aberturas en el suelo de rejilla de alambre directamente a un área en 1 - 3 mm (inmediatamente adyacente) de la incisión y después se mantienen en esta posición durante aproximadamente 8 segundos con fuerza suficiente para producir una leve flexión en el filamento. Las respuestas positivas incluyeron una retirada brusca de la pata trasera del estímulo o comportamiento de encogimiento inmediatamente después de la retirada del estímulo. Se determinó un umbral de retirada del 50 % usando un procedimiento arriba-abajo como se describe en Dixon, W.J., 1980, Efficient analysis of experimental observations, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 20, 441. El efecto sobre la latencia de la retirada de la pata de los compuestos de ensayo comparada con la del vehículo control representa la capacidad del compuesto de prueba para reducir la alodinia. Un incremento de la latencia de retirada de la pata representa un efecto anti-alodínico (es decir, una disminución del dolor).

Un modelo de dolor neuropático inducido por ligadura del nervio espinal (modelo LNE) lo describió originalmente Kim y Chung (Kim, S.H. y J.M. Chung, Pain Vol. 50, página 355, 1992) y también se puede usar para analizar los compuestos de la presente solicitud. Los nervios espinales izquierdos L5 y L6 de la rata se aíslan adyacentes a la columna vertebral y se ligan estrechamente con una sutura de seda 5-0 distal al DRG y se toman precauciones para evitar la lesión del nervio espinal L4. Los animales en simulación sufren el mismo procedimiento, pero sin ligadura de nervios. Se deja que todos los animales se recuperen durante al menos una semana y no más de tres semanas antes de la evaluación de la alodinia táctil. En este estudio solo se usan los animales con una puntuación del umbral basal inferior a 4,25 g y se excluye a los animales que demuestran un déficit motoro. Los umbrales de alodinia táctil también se evalúan en varios grupos control, incluidos animales no tratados anteriormente, operados de forma simulada o a los que se infundió solución salina, así como en las patas contralaterales de los animales con daños en el nervio.

En el ensayo de hipersensibilidad mecánica secundaria inducida con capsaicina, los animales reciben capsaicina a 10 µg en 10 µl de vehículo (10 % de etanol y 2-hidroxipropilciclodextrina) mediante inyección intraplantar en el centro de la pata trasera derecha. La hiperalgesia mecánica secundaria se mide en el talón alejado del sitio de la inyección 180 minutos después de la capsaicina (Joshi et al 2006, Neuroscience 143, 587 - 596). Los compuestos se inyectan (i.p.) 30 minutos antes del análisis (150 minutos después de la capsaicina). La alodinia táctil se mide como se ha descrito anteriormente.

Los efectos adversos se pueden evaluar mediante la medición de la conducta de fuerza de agarre (FA). Las mediciones de la fuerza de agarre de la pata trasera se realizan registrando la fuerza compresiva máxima ejercida sobre el calibrador de la tensión de las extremidades traseras, en un sistema de medición de la fuerza de agarre disponible comercialmente (Columbus Instruments, Columbus, OH). Durante las pruebas, se sujeta suavemente a los animales cogiéndolos alrededor de la caja torácica y después se les deja agarrarse al marco de la rejilla de alambre 10 x 12 cm<sup>2</sup> fijada al calibrador de tensión. A continuación, el investigador mueve al animal en dirección rostral-caudal hasta que se rompe el agarre. Se analiza a cada animal secuencialmente dos veces a intervalos de aproximadamente 2 - 3 minutos para obtener una fuerza de agarre media bruta (CF<sub>max</sub>). Estos datos de fuerza de agarre media bruta a su vez se convierten en una fuerza compresiva máxima de las patas traseras (CF<sub>max</sub>) (fuerza en gramos) / kg de peso corporal para cada animal. Se calcula una media del grupo ± S.E.M. para la CF<sub>max</sub> / kg de peso corporal. A cada experimento se añade un grupo de animales no tratados previamente de edades equivalentes y los datos obtenidos de diferentes grupos de dosis para cada compuesto, o combinación de compuestos, que se está analizando se comparan con el grupo no tratado previamente (asignado como 100 % normal). Una reducción en la fuerza de agarre de las patas traseras para un compuesto de prueba comparada con el efecto del vehículo es una medida de efectos adversos; cuanto mayor es la reducción de la fuerza de agarre, mayor es el efecto adverso. Todos los experimentos en los que se evaluaron los efectos del fármaco en este modelo se realizan de un modo enmascarado aleatorizado. El análisis estadístico de la varianza (ANOVA) se lleva a cabo usando GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Se realiza una prueba de comparación múltiple de Bonferroni como comparación *post hoc*.

Los efectos adversos también se pueden determinar mediante la Medición de la Actividad Locomotora. La actividad espontánea se evalúa en un entorno en campo abierto (42 (longitud) x 42 (base) x 40 cm (altura); Piper Plastics, Libertyville, IL) situado dentro de los monitores Versamax/Digiscan, cada uno de ellos equipado con sensores de infrarrojos (AccuScan Instruments, Inc., Columbus, OH) en un cuarto de pruebas tenuemente iluminado. Tras la administración de los compuestos de prueba o del vehículo control, se introducen las ratas individualmente en las cámaras de prueba y se registra la actividad horizontal (locomoción) durante 30 minutos. Una reducción en la actividad motora horizontal para un compuesto de prueba comparado con el efecto del vehículo es una mezcla de efectos adversos; cuanto mayor es la reducción en la actividad, mayor es el efecto adverso. Los datos se analizan mediante ANOVA seguido de análisis de la diferencia mínima significativa protegida de Fisher (PLSD) como comparación PLSD) (Base de datos estadísticas JMP; SAS Institute, Inc., Cary, NC). Un valor de P < 0,05 se consideró significativo.

La realización principal de la presente solicitud es la reivindicación 1. Esta terapia de combinación puede ser eficaz mediante administración por separado de cada uno de los dos compuestos al mismo tiempo o uno inmediatamente después del otro a dosis suficientes para obtener el efecto terapéutico deseado. Esta terapia de combinación también puede ser eficaz combinando ambos compuestos en la misma composición farmacéutica en cantidades eficaces para obtener el efecto terapéutico deseado.

En otra realización, la presente solicitud proporciona una composición farmacéutica que comprende los compuestos de la presente invención. Las composiciones farmacéuticas comprenden compuestos de la presente invención formulados por separado o junto con uno o más vehículos no tóxicos farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar a seres humanos y a otros mamíferos por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, tópica (como mediante polvos, pomadas o gotas), bucal o como un nebulizador nasal u oral. La expresión "por vía parenteral", como se usa en el presente documento, se refiere a los modos de administración que incluyen inyección intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intraesternal, subcutánea e intraarticular e infusión.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" como se usa en el presente documento quiere decir una carga sólida, semisólida o líquida inerte no tóxica, diluyente, material de encapsulación o formulación auxiliar de cualquier tipo. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables son azúcares tales como, entre otros, lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como, entre otros, almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tales como, entre otros, carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como, entre otros, manteca de cacao y ceras para supositorio; aceites tales como, entre otros, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; ésteres tales como, entre otros, oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tampón tales como, entre otros, hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido alginico, agua apirógena, solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico y soluciones tampón de fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos tales como, entre otros, laurilsulfato sódico y estearato de magnesio, así como también pueden estar presentes en la composición de acuerdo con el juicio del formulador agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención para inyección parenteral comprenden soluciones acuosas o no acuosas, dispersiones, suspensiones o emulsiones estériles farmacéuticamente aceptables, así como polvos estériles para reconstitución en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de usar. Ejemplos de vehículos, diluyentes, disolventes o vehículos acuosos y no acuosos adecuados incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares), mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales (tales como aceite de oliva), ésteres orgánicos inyectables (tales como oleato de etilo) y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones pueden también contener adyuvantes, tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos se puede asegurar mediante la inclusión de varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro sódico y similar. Una absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede efectuar mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y/o gelatina.

En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto del o los fármaco(s), es deseable ralentizar la absorción del o los fármaco(s) de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede conseguir mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua o disolviendo o suspendiendo el o los fármacos en un vehículo oleoso.

Las formas depot inyectables se fabrican formando matrices en microcapsulares del fármaco en polímeros biodegradables, tales como poliláctido-poliglicólido. Dependiendo de la proporción entre el fármaco y el polímero, y la naturaleza del polímero concreto empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli (ortoésteres) y poli (anhídridos). Las formulaciones depot inyectables también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con tejidos corporales.

Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas de dosificación sólidas, el o los compuestos activos se mezclan con al menos un excipiente o vehículo inerte farmacéuticamente aceptable tal como citrato sódico o fosfato dicálcico y/o a) cargas o expansores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico; b) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, celulosa microcristalina, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábiga; c) humectantes, tales como glicerol; d) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o de tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos y carbonato sódico; e) agentes retardantes de la

disolución, tales como parafina; f) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; g) agentes humectantes, tales como, por ejemplo alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; h) absorbentes, tales como caolín y arcilla bentonita; e i) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico; y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación puede también comprender agentes tampón.

Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden usar como cargas en cápsulas de gelatina rellenas duras y blandas, usando vehículos tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares.

Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y coberturas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Opcionalmente pueden contener agentes opacificantes, y también pueden ser de una composición tal que liberen el o los ingredientes activos únicamente o, preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de un modo retardado. Ejemplos de incluir composiciones que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras.

El(los compuesto(s) activo(s) también pueden estar en forma microencapsulada, si es adecuado, con uno o más de los vehículos mencionados anteriormente.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyente inerte de uso habitual en la técnica, tal como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular aceites de algodón, aceite de cacahuate, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol de tetrahidrofurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano, y mezclas de los mismos. Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.

Las formas de dosificación para administración tópica de un compuesto de la presente invención incluyen polvos, aerosoles, pomadas e inhaladores. El compuesto activo se puede mezclar en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante necesario, tampón o propelente que pueda requerir. Las formulaciones oftálmicas, pomadas oculares, polvos y soluciones también se contemplan dentro del alcance de la presente invención.

Los niveles de dosificación reales de los principios activos en las composiciones farmacéuticas de la presente solicitud dependerán de la actividad del compuesto concreto, la vía de administración, la gravedad de la afección que se esté tratando y la afección y los antecedentes médicos del paciente que se esté tratando.

Cuando se usa en los tratamientos anteriores u otros, una cantidad terapéuticamente eficaz de uno de los compuestos de la presente invención se puede usar en forma pura o, cuando dicha forma exista, en forma de sal, éster o profármaco farmacéuticamente aceptable. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" del compuesto de la invención significa una cantidad suficiente del compuesto para tratar trastornos, en una proporción beneficios/riesgos razonable aplicable a cualquier tratamiento médico. No obstante, se entenderá que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención será decidido por el médico responsable dentro del alcance de un juicio médico sólido. El nivel de dosis específico terapéuticamente eficaz para cualquier paciente dependerá de diversos factores, incluyendo el trastorno que se esté tratando y su gravedad, la actividad del compuesto específico usado, la composición específica usada; la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo y la dieta del paciente o sujeto; la hora de administración, la vía de administración y la tasa de excreción del compuesto específico usado; la duración del tratamiento, los fármacos usados en combinación o coincidiendo con el compuesto específico usado y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

Con los ejemplos siguientes solo se pretende ilustrar, y no limitar, el alcance de la presente solicitud.

#### Ejemplo 1. Agonistas selectivos de CB<sub>2</sub> eficaces en el modelo de incisión en la piel.

Usando el modelo de incisión en la piel de dolor postoperatorio, se evaluaron los efectos del compuesto A, el agonista de CB<sub>2</sub> (Z)-N-(5-terc-butil-3-butiltiazol-2(3H)-iliden)-5-cloro-2-metoxibenzamida, sobre la alodinia dos horas después de la cirugía. La Figura **1A** muestra que el umbral de retirada para la pata con incisión recuperada tras la administración i.p. de 10 y 30 μmol/kg del agonista de CB<sub>2</sub> A. La Figura **1B** muestra resultados similares con el compuesto B, agonista de CB<sub>2</sub> (Z)-N-(3-(2-metoxietil)-4,5-dimetiltiazol-2(3H)-iliden)-2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarboxamida, que reestablece el umbral de la retirada a 10 y 30 μmol/kg i.p. Estos resultados indican los efectos potentes obtenidos con los agonistas de CB<sub>2</sub> en este modelo de dolor en ratas.

Ejemplo 2. Efectos del agonista de CB<sub>2</sub> y el antagonista de CB<sub>1</sub> sobre la analgesia en el modelo de incisión en la piel.

5 Usando el modelo de incisión en la piel de dolor postoperatorio, los efectos del agonista de CB<sub>2</sub> A se evaluaron después de la administración de vehículo o del antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant. Este efecto se comparó con la administración de vehículo tras la administración de vehículo o del antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant. Se administró una primera dosis, que consiste en el antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant (30 µmol/kg i.p.) o vehículo (5 % DMSO/PEG) 15 minutos antes de una segunda dosis que consiste en la administración del agonista de CB<sub>2</sub> A (30 µmol/kg i.p.) o vehículo. Se realizó el análisis de la alodinia 30 minutos después de la administración de la segunda dosis, el  
10 agonista de CB<sub>2</sub> A o el vehículo. La Figura 2 muestra que las dos administraciones de vehículo o la administración de vehículo 1 minutos después del antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant no mejoró la alodinia táctil en las ratas operadas. La Figura 2 también muestra que el agonista de CB<sub>2</sub> A administrado después del vehículo o el antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant, pudo inducir analgesia en este modelo. Estos resultados indican que el nivel de analgesia inducida por el agonista de CB<sub>2</sub> no se vio afectado por la administración previa de un antagonista de CB<sub>1</sub>.

Ejemplo 3. Efectos del antagonista de CB<sub>1</sub> y el agonista de CB<sub>2</sub> B sobre la actividad locomotora espontánea.

La Figura 3 muestra que el agonista de CB<sub>2</sub> B reduce significativamente la actividad locomotora espontánea cuando se administra a ratas a 30 y 45 µmol/kg i.p. (barras sólidas). Esta reducción de la actividad locomotora se eliminó  
20 cuando se administraron 30 µmol/kg i.p. del antagonista de CB<sub>1</sub> 15 minutos antes de la administración del agonista de CB<sub>2</sub> B. Todas las pruebas se realizaron 30 minutos después de la administración del agonista de CB<sub>2</sub>. Estos resultados indican que una dosis más alta del agonista de CB<sub>2</sub> B no reducía la actividad espontánea de las ratas cuando se les administró un antagonista de CB<sub>1</sub>. Estos efectos también indican que la reducción de la actividad locomotora por el agonista de CB<sub>2</sub> B es el resultado de su activación residual del receptor CB<sub>1</sub>. De acuerdo con lo anterior, la coadministración del agonista de CB<sub>2</sub> B con el antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant redujo significativamente los efectos adversos.

Ejemplo 4. Efectos del antagonista de CB<sub>1</sub> y el agonista de CB<sub>2</sub> A sobre la actividad locomotora espontánea.

30 Usando el ensayo de la actividad locomotora, los efectos del agonista de CB<sub>2</sub> A se evaluaron después de la administración de vehículo o del antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant. Este efecto se comparó con la administración de vehículo tras la administración de vehículo o del antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant. Se administró una primera dosis, que consiste en el antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant (30 µmol/kg i.p.) o vehículo (5 % DMSO/PEG) 15 minutos antes de una segunda dosis que consiste en la administración del agonista de CB<sub>2</sub> A (30 µmol/kg i.p.) o vehículo. Se realizó el análisis de la actividad locomotora 30 minutos después de la administración de la segunda dosis, el  
35 agonista de CB<sub>2</sub> A o el vehículo. La Figura 4 muestra que el antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant no afectó a la actividad locomotora horizontal del vehículo. El agonista de CB<sub>2</sub> A administrado después del vehículo disminuyó la actividad locomotora horizontal en un 91 %. El antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant pudo bloquear dicha disminución cuando se administró 15 minutos antes del agonista de CB<sub>2</sub> A. Estos efectos indican que la reducción de la actividad locomotora por el agonista de CB<sub>2</sub> A tiene como resultado su actividad residual del receptor CB<sub>1</sub>. La Figura 4 muestra que la administración del antagonista de CB<sub>1</sub> y el agonista de CB<sub>2</sub> eliminan los efectos secundarios indeseados inducidos por la actividad residual sobre CB<sub>1</sub> del agonista de CB<sub>2</sub>.

Ejemplo 5. Efecto del antagonista de CB<sub>1</sub> y el agonista de CB<sub>2</sub> sobre el comportamiento de la fuerza de agarre.

45 Usando el ensayo del comportamiento de la fuerza de agarre, los efectos del agonista de CB<sub>2</sub> B se evaluaron después de la administración de vehículo o del antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant. Este efecto se comparó con la administración de vehículo tras la administración de vehículo o del antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant. Se administró una primera dosis, que consiste en el antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant (30 µmol/kg i.p.) o vehículo (5 % DMSO/PEG) 15 minutos antes de una segunda dosis que consiste en la administración del agonista de CB<sub>2</sub> B (30 µmol/kg i.p.) o  
50 vehículo. Se realizó el análisis del comportamiento de la fuerza de agarre 30 minutos después de la administración de la segunda dosis, el agonista de CB<sub>2</sub> B o el vehículo. La Figura 5 muestra la reducción inducida por el agonista de CB<sub>2</sub> B de la fuerza de agarre en un 42 % (30 µmol/kg i.p.). Este efecto se bloqueó completamente mediante la administración previa del antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant Como se muestra en la Figura 5, rimonabant no tuvo efecto alguno sobre la fuerza de agarre cuando se administró antes de vehículo. Estos efectos indican que la reducción de la fuerza de agarre por el agonista de CB<sub>2</sub> B es el resultado de su activación residual del receptor CB<sub>1</sub>. La Figura 5 muestra que la administración del antagonista de CB<sub>1</sub> y el agonista de CB<sub>2</sub> eliminan los efectos secundarios indeseados inducidos por la actividad residual sobre CB<sub>1</sub> del agonista de CB<sub>2</sub>.

Ejemplo 6. Efecto de la coadministración del antagonista de CB<sub>1</sub> y el agonista de CB<sub>2</sub> sobre la presión arterial media (PAM) y la frecuencia cardíaca (FC).

Se anestesió a las ratas Sprague-Dawley con el barbitúrico de acción larga, Inactin. Se colocaron catéteres en la arteria femoral para la medición de la PAM y la FC. Se introdujeron catéteres adicionales en la vena femoral para la  
65 administración del compuesto y la infusión de solución salina para mantener la hidratación. Tras un periodo de control de 30 minutos, se administró por vía intravenosa vehículo (PEG400), compuesto B (vehículo: PEG400; 2

ml/kg) o agonista de CB<sub>2</sub> B (vehículo: PEG400; 2 ml/kg) más antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant (vehículo: PEG400; 1 ml/kg) durante una infusión de 30 minutos. Cuando se administró de forma simultánea, se infundieron el compuesto B y rimonabant individualmente usando jeringas separadas. Las dosis analizadas aquí fueron 1,0 mg/kg para el compuesto B y 3,2 mg/kg para rimonabant. Los datos se expresan como la media de 3 ratas ± sem. La Figura 6  
5 demuestra los efectos sobre la presión arterial media (PAM) de la administración de vehículo, compuesto B solo y compuesto B con rimonabant. Estos resultados demuestran que el tratamiento de combinación del compuesto B con rimonabant está desprovisto de un efecto sobre la presión arterial con respecto al vehículo, mientras que el tratamiento con el compuesto B tiene un efecto para reducir la presión arterial. Estos efectos indican que la reducción de la presión arterial por el agonista de CB<sub>2</sub> B es el resultado de su activación residual del receptor CB<sub>1</sub>.  
10 La Figura 6 muestra que la administración del antagonista de CB<sub>1</sub> y el agonista de CB<sub>2</sub> eliminan los efectos secundarios indeseados inducidos por la actividad residual sobre CB<sub>1</sub> del agonista de CB<sub>2</sub>.

Ejemplo 7. Una comparación de la eficacia y los efectos secundarios para un agonista de CB<sub>2</sub> solo y un agonista de CB<sub>2</sub> administrado con un antagonista de CB<sub>1</sub>

15 La Figura 7 muestra el efecto en el modelo del dolor por incisión en la piel y el ensayo del efecto secundario locomotor para el agonista de CB<sub>2</sub> compuesto A y el compuesto A más el antagonista de CB<sub>1</sub> rimonabant con los datos expresados como el efecto máximo posible obtenible en estos ensayos. El compuesto A y el compuesto A coadministrado con rimonabant muestran una eficacia equivalente en el modelo de dolor por incisión en la piel. El  
20 compuesto A más rimonabant muestra efectos secundarios muy reducidos sobre el ensayo locomotor en comparación con el compuesto A administrado solo. El compuesto A se administró a una dosis de 30 µmol/kg i.p. y rimonabant se administró a una dosis de 30 µmol/kg i.p. 15 minutos antes del compuesto A.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una combinación de un agonista selectivo de los receptores CB<sub>2</sub> seleccionado del grupo que consiste en (Z)-N-(5-terc-butil-3-butiltiazol-2(3H)-iliden)-5-cloro-2-metoxibenzamida y (Z)-N-(3-(2-metoxietil)-4,5-dimetiltiazol-2(3H)-iliden)-2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarboxamida y rimonabant para su uso en el tratamiento de un sujeto que sufre dolor mediante la administración del agonista selectivo de CB<sub>2</sub> en una cantidad eficaz para obtener un efecto terapéutico y rimonabant en una cantidad eficaz para bloquear cualquier efecto adverso mediado por el receptor CB<sub>1</sub> pero no antagonizar el efecto terapéutico del agonista del receptor CB<sub>2</sub>.
- 10 2. La combinación de la reivindicación 1, donde el dolor se selecciona del grupo que comprende dolor neuropático, dolor nociceptivo y dolor inflamatorio.
- 15 3. La combinación de la reivindicación 1, donde el agonista del receptor CB<sub>2</sub> y el rimonabant se administran como composiciones farmacéuticas separadas, incluido un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 20 4. La combinación de la reivindicación 1, donde el agonista del receptor CB<sub>2</sub> y el rimonabant se administran juntos como una composición farmacéutica, incluido un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 25 5. Una composición que comprende un agonista selectivo de los receptores CB<sub>2</sub> seleccionado del grupo que consiste en (Z)-N-(5-terc-butil-3-butiltiazol-2(3H)-iliden)-5-cloro-2-metoxibenzamida y (Z)-N-(3-(2-metoxietil)-4,5-dimetiltiazol-2(3H)-iliden)-2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarboxamida en una cantidad eficaz producir un efecto terapéutico, rimonabant en una cantidad eficaz para antagonizar los efectos secundarios y adversos producidos por el agonista de CB<sub>2</sub> pero no antagonizar el efecto terapéutico del agonista de CB<sub>2</sub> y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

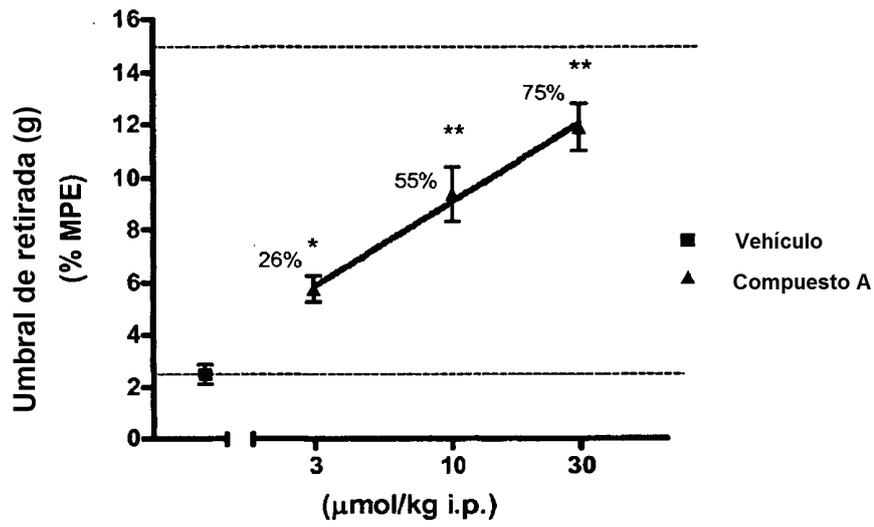


Figura 1A

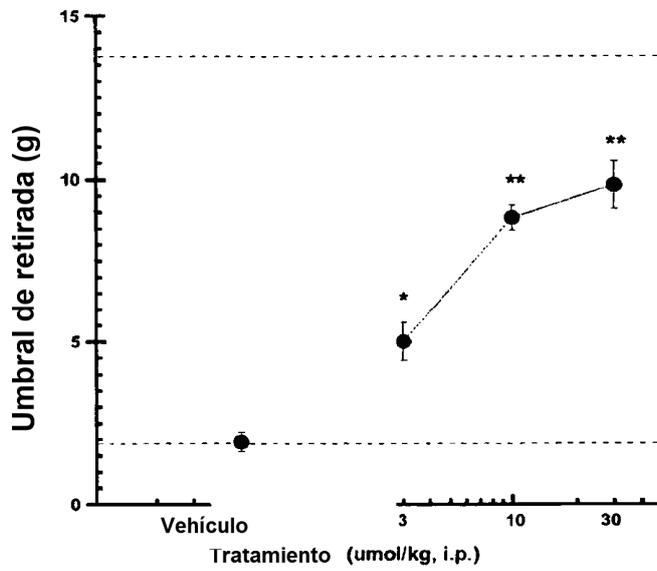


Figura 1B

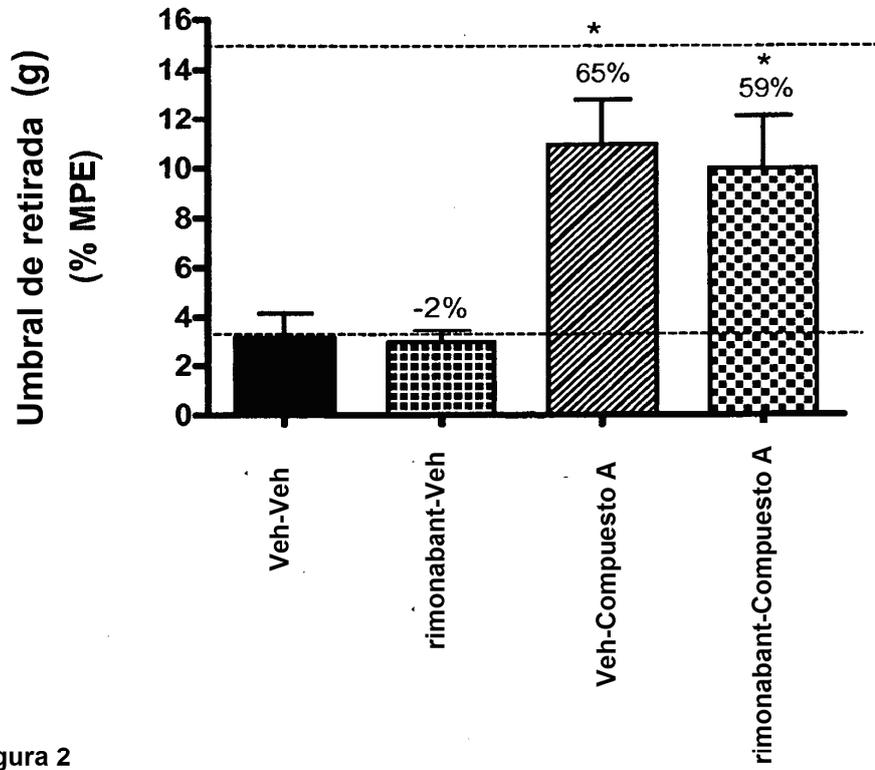


Figura 2

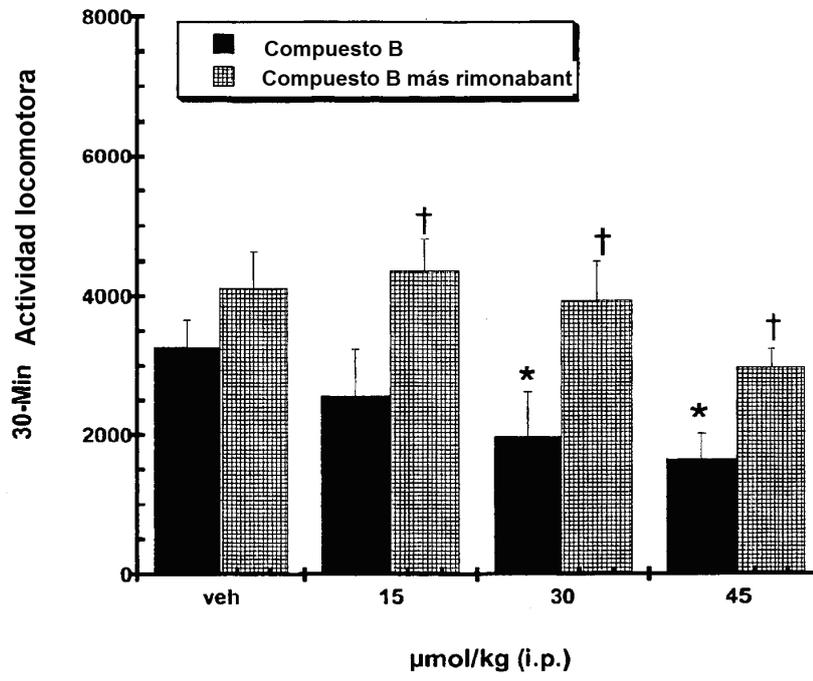


Figura 3

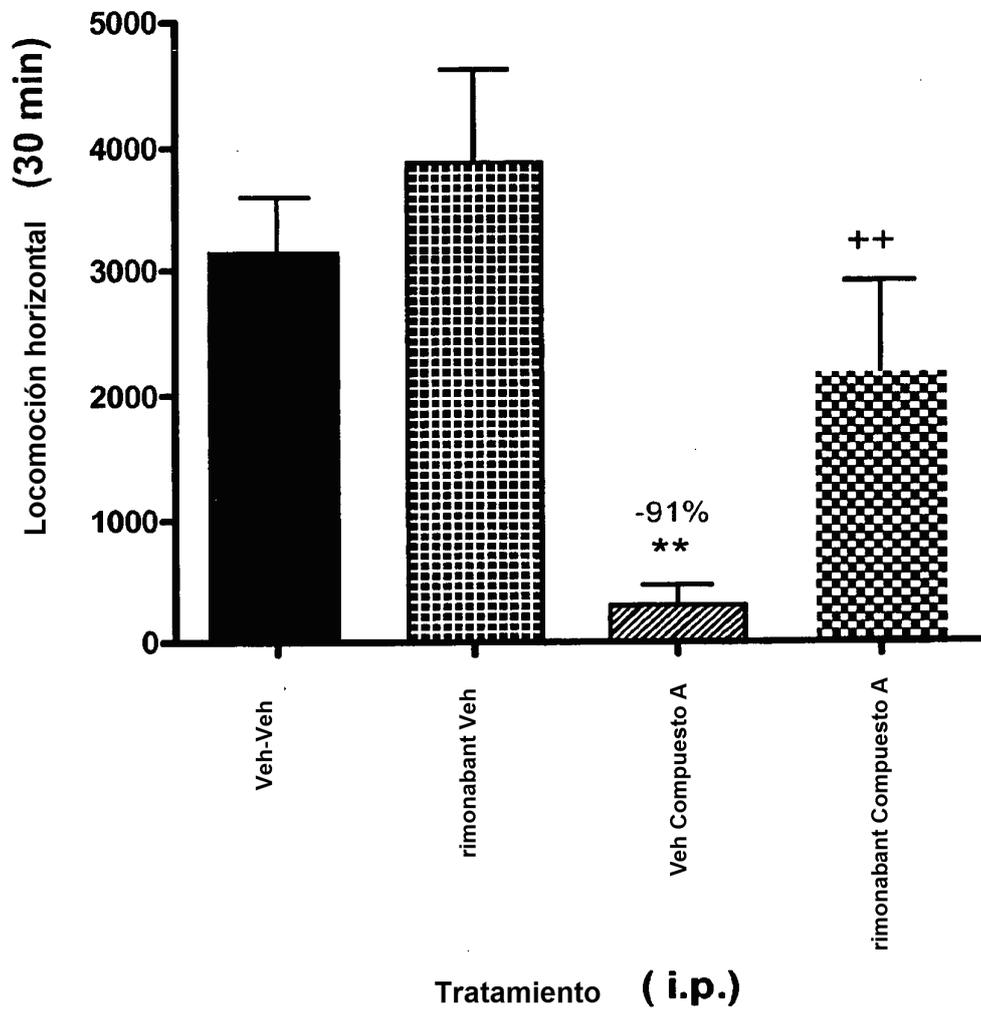


Figura 4.

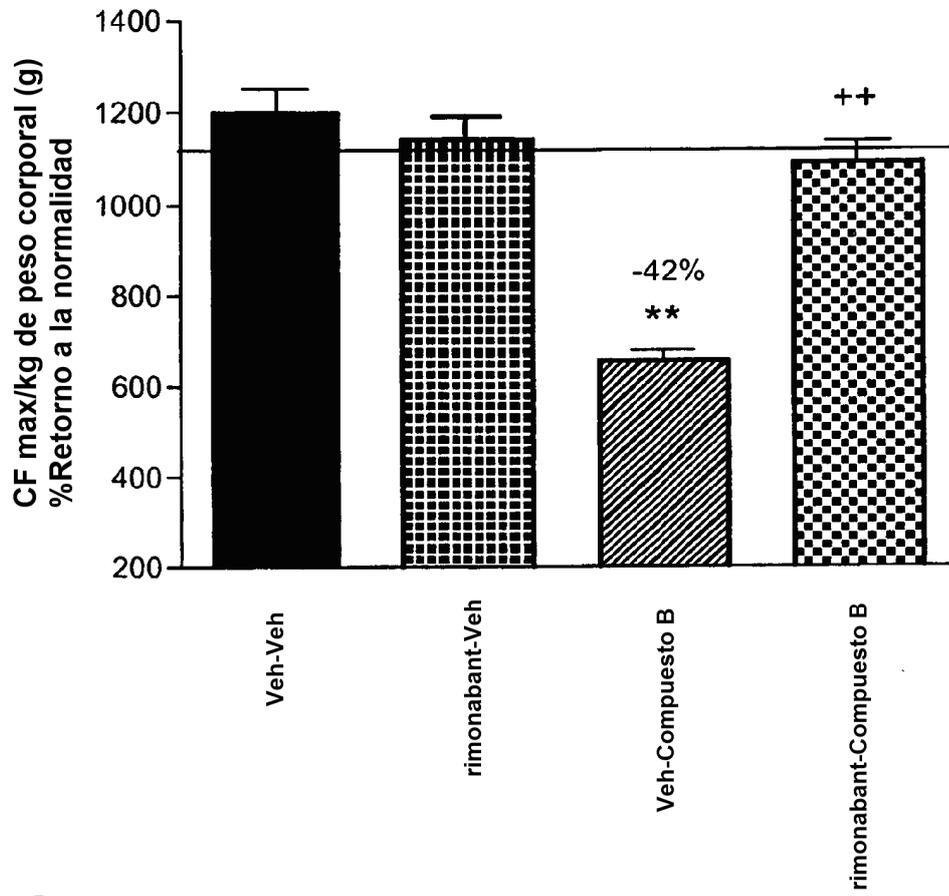


Figura 5

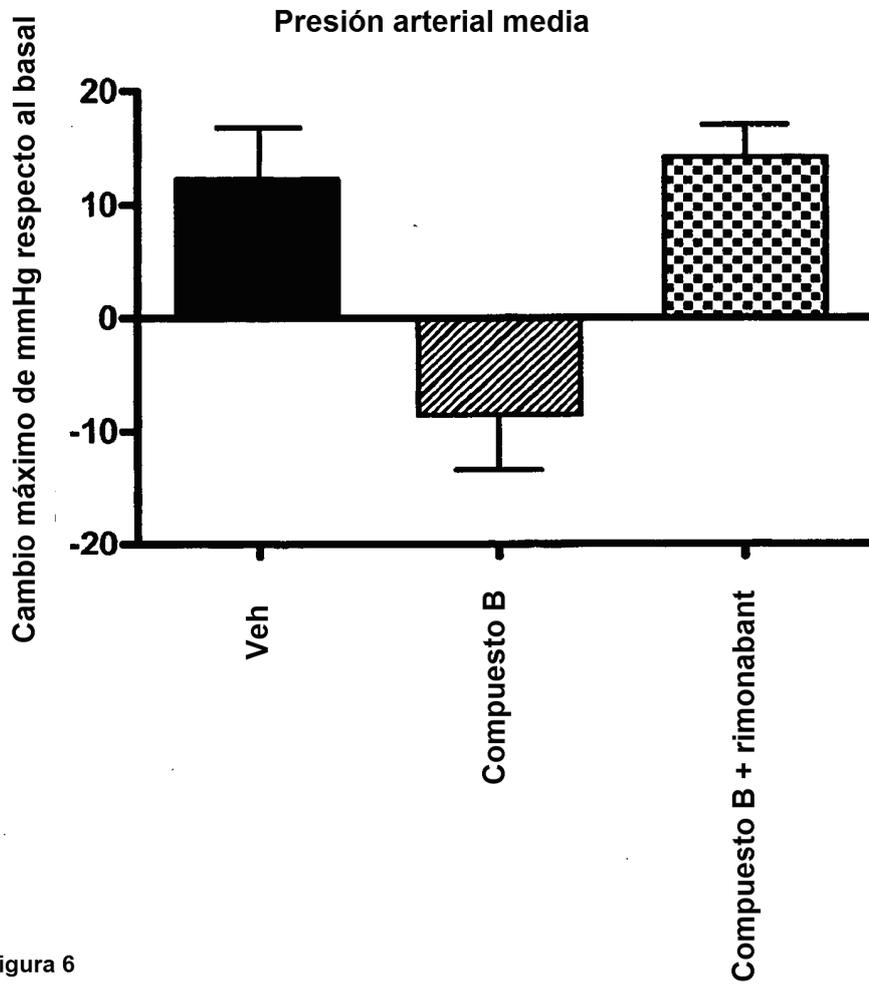


Figura 6

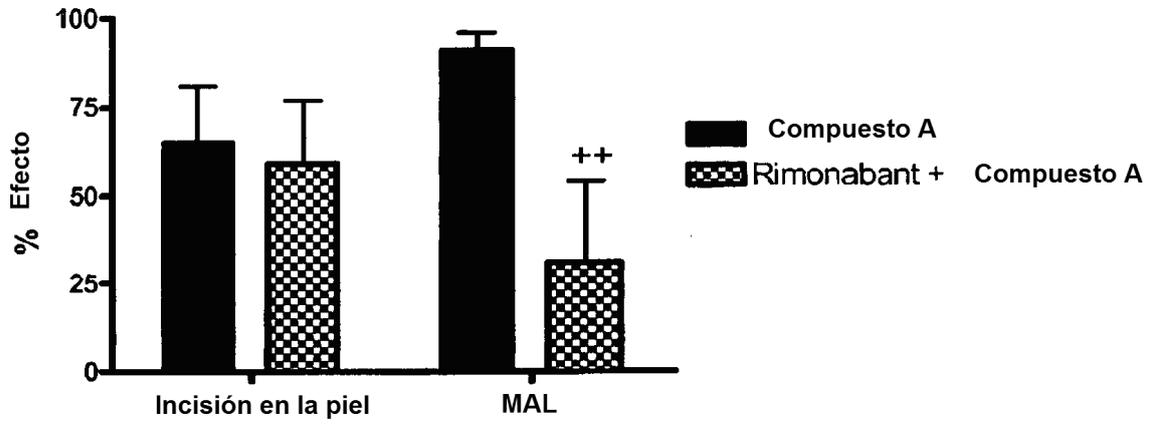


Figura 7.