

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 117**

51 Int. Cl.:

A61K 36/185 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61K 31/35 (2006.01)

A61K 31/05 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 25/18 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2008** **E 13152600 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2019** **EP 2609928**

54 Título: **Uso de cannabinoides en combinación con Aripiprazol**

30 Prioridad:

04.01.2008 GB 0800390

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.03.2020

73 Titular/es:

GW PHARMA LIMITED (100.0%)
Sovereign House, Histon
Cambridge CB24 9BZ, GB

72 Inventor/es:

KIKUCHI, TETSURO;
MAEDA, KENJI;
GUY, GEOFFREY;
ROBSON, PHILIP y
STOTT, COLIN

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 751 117 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

Uso de cannabinoides en combinación con Aripiprazol

Antecedentes de la invención

- 5 La psicosis y los desórdenes psicóticos se usan para describir pacientes para los cuales hay una pérdida de contacto con la realidad.
- La psicosis y los desórdenes psicóticos pueden dar lugar a un número de síntomas que incluyen: alucinaciones donde el paciente percibe cosas que no existen; delirios donde el paciente tiene creencias que no se basan en la realidad; problemas al pensar claramente; y no darse cuenta de que existe algo malo con ellos.
- 10 La siguiente lista ilustra un número de estos estados enfermizos, muchos de los cuales se clasifican en el "Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, text revision" (Manual de diagnóstico y estadística de desórdenes mentales, cuarta edición, revisión de texto) (DSM-IV-TR) publicado por la American Psychiatric Association 2000: esquizofrenia; desorden esquizofreniforme (episodio esquizofrénico agudo); desorden esquizoafectivo; desorden bipolar I (manía, desorden maníaco, psicosis maniaco-depresiva); desorden bipolar II; desorden depresivo principal con característica psicótica (depresión psicótica); desórdenes de delirio (paranoia);
- 15 desorden psicótico compartido (desorden de paranoia compartida); desorden psicótico breve (psicosis reactiva distinta y no especificada); desorden psicótico no especificado de otra manera (psicosis no especificada); desorden de personalidad paranoide; desorden de personalidad esquizoide; y desorden de personalidad esquizotípica.
- La esquizofrenia es una enfermedad compleja en la cual la persona que la sufre tiene dificultad para comprender la diferencia entre experiencias reales e irreales. Un paciente que sufre de esquizofrenia también tiene dificultad en el pensamiento lógico y en responder con emociones normales en situaciones sociales y otras.
- 20 La esquizofrenia puede adoptar diferentes tipos: el tipo catatónico en el cual el paciente sufre perturbaciones motoras, estupor, negatividad, rigidez, agitación e incapacidad para cuidar sus necesidades personales y una sensibilidad reducida a los estímulos dolorosos; el tipo paranoide, donde el paciente sufre con pensamientos delirantes de persecución o de una naturaleza grandiosa; ansiedad; enojo; violencia y tendencia a tener disputas; y el tipo desorganizado en el cual el paciente es incoherente y muestra comportamiento regresivo, delirios, alucinaciones, risa inapropiada, manierismos repetitivos y retiro de la sociedad.
- 25 Los pacientes también pueden sufrir con síntomas de uno o más subtipos o puede haber tenido una reducción de los síntomas prominentes pero algunas características, como las alucinaciones, pueden permanecer.
- 30 El desorden esquizofreniforme (episodio esquizofrénico agudo) se caracteriza por la presencia de los síntomas de esquizofrenia que incluyen: delirios, alucinaciones, discurso desorganizado, conducta desorganizada o catatónica y síntomas negativos. El desorden, incluyendo sus fases: prodrómica, activa y residual, dura más de un mes, pero menos de seis meses
- Los síntomas de desorden esquizoafectivo pueden variar en gran medida de paciente a paciente. Muchos pacientes sufren con problemas del estado de ánimo, función diaria o pensamientos invasivos. Otros síntomas pueden incluir estado de ánimo elevado, inflado o deprimido; irritabilidad y mal control del temperamento; cambios en apetito, energía y sueño; alucinaciones (particularmente alucinaciones auditivas); delirios de referencia; paranoia; preocupación por la higiene con deterioro y discurso desorganizado o ilógico.
- 35 El desorden esquizoafectivo presenta ciclos de síntomas severos seguidos de mejoramiento.
- 40 El desorden bipolar I (manía, desorden maníaco, psicosis maniaco-depresiva) se caracteriza por oscilaciones del estado de ánimo que van desde bajo (sensaciones de depresión intensa y desesperación) hasta alto (sensaciones de euforia, denominadas "manía") y puede mezclarse, por ejemplo, un estado de ánimo deprimido puede combinarse con inquietud e hiperactividad. Con frecuencia se experimentan episodios tanto depresivos, como maníacos.
- 45 El desorden bipolar II se caracteriza por episodios hipomaniacos como también por al menos un episodio depresivo grave. Los episodios hipomaniacos no van a extremos de manía (es decir, no causan disfunción social u ocupacional, y no tienen características psicóticas). El desorden bipolar II es mucho más difícil de diagnosticar puesto que los episodios hipomaniacos pueden aparecer simplemente como un período de alta productividad exitosa y se reporta menos frecuentemente que una depresión alarmante. La psicosis puede ocurrir en episodios maníacos y depresivos graves, pero no en la hipomanía. Para ambos desórdenes visten el número de
- 50 especificadores que indican la presentación del curso del desorden, incluyendo "crónico", "oscilación rápida", "catatónico" y "melancólico".
- Desorden depresivo grave con característica psicótica (depresión psicótica) se caracteriza porque un paciente además de sufrir de síntomas depresivos también sufre de alucinaciones o delirios. Estos pacientes se vuelven

paranoides con frecuencia y pueden creer que sus pensamientos no son los suyos propios y que otros pueden “oír” sus pensamientos.

Desórdenes de delirio (paranoia) son una forma de psicosis donde el paciente tiene delirios paranoides duraderos que no tienen otra causa física o médica. Estos delirios también pueden acompañarse por alucinaciones auditivas.

- 5 Desorden psicótico compartido (desorden de paranoia compartida) es una condición muy rara en la cual la gente cercana a una persona mentalmente enferma comparte sus creencias falsas (delirios). Como ejemplo, un hombre con esquizofrenia puede creer falsamente que sus hijos están tratando de asesinarlo. Su esposa desarrolla desorden psicótico compartido y empieza a creerlo también. Este desorden ocurre habitualmente en relaciones de largo plazo e involucra a dos personas. Sin embargo, también puede desarrollarse entre miembros de un grupo, tales como dentro de las familias. Esto afecta a mujeres más frecuentemente que a hombres.

- 10 Desorden psicótico breve (psicosis reactiva distinta y no especificada) se caracteriza por pacientes que experimentan un episodio psicótico agudo que dura más de un día, pero menos de un mes y que puede o puede no seguir inmediatamente a un estrés importante en la vida o a un embarazo (con inicio posparto). La enfermedad habitualmente viene como una sorpresa ya que no hay una advertencia previa de que la persona tiene la probabilidad de colapsar, aunque este desorden es más común en personas con un desorden de personalidad preexistente.

- 15 El desorden de personalidad paranoide se caracteriza por una exageración de los módulos cognitivos para sensibilidad al rechazo, resentimiento, desconfianza, así como también la inclinación a distorsionar eventos experimentados. Las acciones neutras y amigables de otros son malinterpretadas con frecuencia como hostiles o despectivas. Suspicacias sin fundamento respecto de la fidelidad sexual de las parejas y fidelidad en general, así como también se insiste de manera obstinada y con disputas en la creencia de que los derechos de uno no están siendo reconocidos. Tales individuos pueden poseer una confianza excesiva en sí mismos y una tendencia hacia una auto-referencia exagerada. También se presentan celos patológicos, contraataques agresivos instintivos, la necesidad de controlar a otros y la recolección de “evidencia” trivial o circunstancial para apoyar sus creencias celosas.

- 20 El desorden de personalidad esquizoide (SPD) se caracteriza por una falta de interés en las relaciones sociales, una tendencia hacia un estilo de vida solitario, actitud de secreto y frialdad emocional. SPD es razonablemente raro en comparación con otros desórdenes de personalidad, su incidencia se estima en menos de 1% de la población general.

- 30 El desorden de personalidad esquizotípica se caracteriza por una necesidad de aislamiento social, comportamiento y pensamiento extraños y con frecuencia creencias no convencionales tales como estar convencido de tener habilidades extrasensoriales.

La psicosis y los desórdenes psicóticos se tratan comúnmente con una clase de medicamento conocida como antipsicóticos atípicos.

- 35 Los antipsicóticos atípicos también son conocidos como antipsicóticos de segunda o de tercera generación, algunos de los cuales están aprobados por la FDA para usarse en el tratamiento de desórdenes psicóticos que incluyen: esquizofrenia; desorden bipolar; manía y otras indicaciones.

- 40 Los antipsicóticos atípicos son un grupo heterogéneo de fármacos no relacionados de otra manera, los cuales se agrupan como tales debido al hecho de que funcionan de diferente manera a otros antipsicóticos típicos. Muchos, pero no todos los antipsicóticos atípicos funcionan actuando sobre los sistemas receptores de serotonina y dopamina en el cerebro.

Ejemplos de medicamentos antipsicóticos atípicos incluyen, pero no se limitan a: aripiprazol; risperidona; paliperidona; ziprasidona; olanzapina; quetiapina; clozapina; sulpirida; amisulprida; iloperidona; cariprazina; asenapina

- 45 Aripiprazol es un antipsicótico de tercera generación. Aripiprazol tiene actividad como un agonista en los receptores de serotonina y receptores de dopamina, y actúa como un agonista o agonista parcial en el receptor de serotonina 5-HT_{1A} y es un agonista o un agonista parcial del receptor de dopamina D_{sub.2}. Aripiprazol es un estabilizador del sistema de dopamina-serotonina.

- 50 La medicación antipsicótica raramente se usa en niños, aunque recientemente tanto risperidona como aripiprazol han recibido aprobación de la FDA para su uso en el tratamiento de esquizofrenia y manía o episodios mixtos de desorden bipolar en niños y adolescentes.

La clase de antipsicóticos atípicos de medicamentos son favorecidos con la mayor frecuencia por parte de los médicos en el tratamiento de desórdenes psicóticos tales como esquizofrenia, y su uso está reemplazando lentamente el uso de antipsicóticos típicos tales como flufenazina, haloperidol y clorpromazina.

Una característica de antipsicóticos atípicos es la propensión reducida de estos medicamentos a causar efectos laterales extrapiramidales en ausencia de elevación de prolactina.

Los efectos laterales que se han reportado para la clase de medicamentos conocidos como antipsicóticos atípicos varían de fármaco a fármaco.

- 5 Los medicamentos olanzapina y risperidona han sido contraindicados en pacientes adultos mayores con demencia debido a un riesgo incrementado de apoplejía.

También se conoce que los antipsicóticos atípicos pueden causar desplazamientos anormales en patrones de sueño y como tales dan lugar a una debilidad y cansancio extremos.

- 10 Otros efectos laterales incluyen discinecia tardía (sacudidas involuntarias y muecas faciales), y distonia (contracciones musculares involuntarias). En adición, algunos antipsicóticos atípicos pueden causar serios desórdenes metabólicos, similares a aquellos causados por los antipsicóticos típicos.

Tales desórdenes metabólicos incluyen hiperglicemia y diabetes.

Existen muchos informes de que los fármacos antipsicóticos conducen un hospedero a efectos colaterales relacionados con el metabolismo.

- 15 Por ejemplo, ganancia de peso, resistencia a la insulina, diabetes tipo 1 y 2, hiperlipidemia, hiperprolactinemia, y enfermedad cardiovascular se encuentran entre los efectos colaterales relacionados con el metabolismo que reportan los pacientes que toman medicación antipsicótica.

- 20 Claramente existe un requisito significativo para un tratamiento eficaz que es capaz de prevenir o tratar psicosis o desórdenes psicóticos sin dar lugar a efectos colaterales. En particular, la reducción en la incidencia de efectos colaterales relacionados con el metabolismo es de gran importancia ya que estas enfermedades y condiciones pueden ser tan discapacitantes que el paciente puede suspender su medicación a fin de aliviar los efectos colaterales.

Existe una cantidad de documentos que se enfocan en el uso de antagonistas de CB1 en combinación con antipsicóticos para este propósito.

- 25 Los documentos WO2006/097605 y US 2008/0015186 describen el uso de un antagonista de receptor de cannabinoide a base de pirazol (CB1), específicamente rimonabant, con antipsicóticos tales como risperidona, para contrarrestar los problemas de peso, la obesidad y los desórdenes metabólicos asociados con el uso de tales antipsicóticos. En otras palabras, ambos fármacos efectúan independientemente su función natural.

- 30 El documento WO2007/136571 se refiere al uso de antagonistas de CB1 y agonistas inversos en combinación con agentes antipsicóticos.

El documento WO 03/087037 divulga un tratamiento para la manía que comprende usar un modulador de receptor de CB1 en combinación con un agente antipsicótico.

El documento US2007/0105914 enseña el uso de moduladores de receptor de CB1 en combinación con fármacos antipsicóticos convencionales.

- 35 El documento WO2005/063761 describe heterociclos azabíclicos como moduladores de receptor de cannabinoide y sugiere que estos compuestos pueden usarse en combinación con agentes antipsicóticos.

El documento WO2005/020992 sugiere contrarrestar el problema de ganancia de peso asociado con muchos antipsicóticos atípicos mediante la administración conjunta de un antagonista de CB1.

- 40 En líneas generales estos documentos son especulativos en su naturaleza sugiere combinaciones de muchos compuestos sintéticos diferentes con poco soporte o sin ninguno. Sin embargo, nadie ha investigado específicamente el uso de fito-cannabinoides en combinación con antipsicóticos.

- 45 El documento WO 2006/054057 divulga el uso de fito-cannabinoide THCV en el tratamiento de indicaciones de enfermedad asociadas con el receptor de cannabinoide CB1 basado en el descubrimiento sorprendente de que es un antagonista neutro de CB1 (en contraste con THC que, aunque estructuralmente similar, es un agonista de CB1). Este sugiere usarlo para el tratamiento de, por ejemplo, obesidad y esquizofrenia, pero no hace sugerencias de su uso en combinación con otros fármacos.

El documento WO 2006/017892 divulga el uso de cannabis en el tratamiento de la esquizofrenia. Dicho tratamiento se administra a un grupo de pacientes que padecen esquizofrenia a los cuales ya se les ha administrado un medicamento psiquiátrico.

Zuardi A. W. et al., Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2006, vol. 39, no. 4, páginas 421-429 divulgan el uso de CBD como agente antipsicótico en el tratamiento de la esquizofrenia.

Los cannabinoides son un grupo de químicos conocidos por activar receptores de cannabinoide en células. Estos químicos, que se encuentran en plantas de cannabis también se producen de manera endógena en humanos y otros animales. Estos se denominan endocannabinoides. Los cannabinoides sintéticos son químicos con estructuras similares a los cannabinoides vegetales o endocannabinoides y, por supuesto, es posible también hacer versiones sintéticas de estos cannabinoides vegetales o endocannabinoides.

Los cannabinoides poseen las características de ser moléculas cíclicas que exhiben propiedades particulares tales como la habilidad de cruzar fácilmente la barrera sangre-cerebro, toxicidad débil y pocos efectos secundarios.

Los cannabinoides vegetales o fito-cannabinoides también pueden aislarse de modo que sean compuestos "esencialmente puros". Estos cannabinoides aislados son esencialmente libres de los otros compuestos de ocurrencia natural tales como otros cannabinoides menores y moléculas tales como terpenos.

Compuestos esencialmente puros tienen un grado de pureza de hasta al menos 95% en peso total. Algunos cannabinoides esencialmente puros (ya sean sintéticos o aislados) han sido sugeridos como agentes neuro protectores, ya sea mediante antagonismo directo del receptor de NMDA o reduciendo la afluencia de iones de calcio a la célula por otros medios tales como enlazamiento con receptores de cannabinoide.

Sin embargo, el pensamiento actual es tal que se cree por lo general que el cannabis, y por implicación los fito-cannabinoides, pueden ser responsables de que los usuarios (particularmente jóvenes) desarrollen enfermedades psicológicas. Esto se debe principalmente a la condición conocida como psicosis de cannabis. El uso de cannabis se ha relacionado con psicosis por varios estudios revisados entre pares. Un estudio sueco de 1987 reivindicó un enlace entre el uso de cannabis y la esquizofrenia. Más recientemente, el Dunedin Multidisciplinary Health and Development Study publicó una investigación que mostraba un riesgo incrementado de psicosis para usuarios de cannabis con cierta predisposición genética, poseída por 25% de la población. En 2007, un estudio publicado en The Lancet y una encuesta de expertos de salud mental mostró que un número creciente de profesionales de salud médica están convencidos que el uso de cannabis incrementa la susceptibilidad a las enfermedades mentales, lo cual representa el 14% de los casos de psicosis en el Reino Unido.

Es probable que la conexión entre uso de cannabis y psicosis se ve como una consecuencia de la alta concentración del cannabinoide psicoactivo tetrahidrocannabinol (THC) que se encuentra en la mayoría de cannabis recreativa.

A pesar del fuerte prejuicio contra el cannabis, el solicitante cree que hay una evidencia creíble significativa que apoya el uso de ciertas medicinas a base de fito-cannabinoide en combinación con fármacos antipsicóticos atípicos. La razón para esto se resume en más adelante.

Se ha encontrado que algunos cannabinoides vegetales son agentes efectivos en el tratamiento de psicosis o desórdenes psicóticos. Por ejemplo, el solicitante ha demostrado en su solicitud de patente co-pendiente WO 2005/000830 el uso de compuestos de tipo cannabicromeno (CBC) y derivados en el tratamiento de desórdenes del estado de ánimo. Los desórdenes del estado de ánimo a ser tratados se toman del grupo: depresión mórbida o clínica; desorden de estado de ánimo unipolar; desorden de estado de ánimo bipolar; depresión sindrómica; desorden de pánico y ansiedad.

Adicionalmente, el solicitante también ha descrito en su solicitud co-pendiente WO 2007/144628 el uso de compuestos del tipo cannabigerol (CBG) (que incluyen el análogo propilo de cannabigerol (CBGV)) y sus derivados en el tratamiento de desórdenes del estado de ánimo. De modo similar, los desórdenes de estado de ánimo que van a ser tratados se toman del grupo: depresión mórbida o clínica; desorden de estado de ánimo unipolar; desorden de estado de ánimo bipolar; depresión sindrómica; desorden de pánico y ansiedad.

Además de la evidencia que soporta el uso de cannabinoides específicos en el tratamiento de desórdenes psicóticos, también existe la evidencia creíble que soporta el uso de cannabinoides específicos para tratar un número de enfermedades o condiciones tales como, por ejemplo, apoplejía, diabetes y otros desórdenes metabólicos donde el uso de los medicamentos antipsicóticos atípicos que se encuentran contraindicados.

Por lo tanto, mientras que los cannabinoides individuales pueden usarse en combinación con antipsicóticos atípicos, puede usarse una estrategia preferida para usar combinaciones de cannabinoides que pueden estar presentes o pueden no estar presentes como un extracto vegetal de cannabis. Dependiendo del extracto seleccionado puede ser deseable retirar de modo selectivo todo o una porción de THC o THCA del extracto.

Resumen de la invención

De acuerdo con el primer aspecto de la presente invención se proporciona una formulación farmacéutica para uso en el tratamiento de la esquizofrenia que comprende cannabidiol (CBD) en combinación con aripiprazol para administración por separado, de modo secuencial o simultáneo que comprende además uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

Preferiblemente CBD está presente en forma de un extracto vegetal de cannabis, el cual dependiendo de la composición del extracto puede tener retirado selectivamente todo o una porción de THC o THCA.

Más preferiblemente, el extracto de CBD de al menos una planta de cannabis es una sustancia fármaco botánica.

De modo alternativo, CBD puede estar presente en una forma pura o aislada.

- 5 Una preparación "pura" de CBD se define como una preparación que tiene una pureza cromatográfica (del cannabinoide deseado) de más del 90%, más preferiblemente de más del 95%, más preferiblemente de más del 96%, más preferiblemente de más del 97%, más preferiblemente de más del 98%, más preferiblemente de más del 99% y de la manera más preferida de más de 99.5%, tal como se determina mediante normalización de área de un perfil de HPLC.
- 10 Preferiblemente, CBD puro, usado en la invención, están sustancialmente libres de cualquier otro cannabinoide que existe naturalmente o es sintético, incluyendo cannabinoides que tienen lugar en la naturaleza en plantas de cannabis. En este contexto "sustancialmente libre" puede adoptar el significado de que mediante HPLC no son detectables cannabinoides distintos del cannabinoide diana.
- 15 CBD puro pueden prepararse a partir de una sustancia fármaco botánica. Por parte del solicitante se ha establecido una técnica y se ha descrito en su patente concedida en el Reino Unido, GB2393721.

En otro aspecto de la presente invención, el CBD se encuentran en una forma sintética.

- 20 Las referencias cannabinoides CBD, particularmente con respecto al uso terapéutico, se entenderán para abarcar también sales farmacéuticamente aceptables del cannabinoide. El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales o ésteres preparados a partir de bases o ácidos no tóxicos aceptables farmacéuticamente, que incluyen bases o ácidos inorgánicos y bases o ácidos orgánicos, como sería bien conocido por personas versadas en la materia. Muchas bases adecuadas inorgánicas y orgánicas son conocidas en la técnica.

- 25 La divulgación también se extiende a derivados de cannabinoides que mantienen la actividad deseada. Los derivados que mantienen sustancialmente la misma actividad que el material inicial, o exhiben más preferiblemente actividad mejorada, pueden producirse de acuerdo con principios estandarizados de química medicinal, los cuales son bien conocidos en la técnica. Tales derivados pueden exhibir un grado menor de actividad que el material de partida en tanto mantengan suficiente actividad para ser terapéuticamente efectivos. Los derivados pueden exhibir mejoramientos en otras propiedades que son deseables en agentes farmacéuticamente activos tales como, por ejemplo, solubilidad mejorada, toxicidad reducida, ingesta incrementada, etcétera.

- 30 La divulgación también abarca composiciones farmacéuticas que comprenden cannabinoides o sales o derivados de los mismos farmacéuticamente aceptables en combinación con medicamentos antipsicóticos formulados en formas posológicas farmacéuticas conjuntamente con soportes aceptables en farmacia tales como diluyentes, materiales de carga, sales, reguladores de pH, estabilizantes, solubilizantes, etcétera. La forma posológica puede contener otros excipientes farmacéuticamente aceptables para modificar condiciones tales como pH, osmolaridad, sabor, viscosidad, esterilidad, lipofilicidad, solubilidad, etcétera. La elección de diluyentes, soportes o excipientes dependerá de la forma posológica deseada que puede ser dependiente a su vez de la ruta pretendida de administración a un paciente.
- 35

- 40 Las formas posológicas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, formas posológicas sólidas, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos dispersables, píldoras y supositorios, incluyendo formulaciones de liberación sostenida o liberación retrasada. Los polvos y comprimidos generalmente comprenderán desde aproximadamente 5% hasta aproximadamente 70% de ingrediente activo. Los soportes sólidos y excipientes adecuados se conocen en términos generales en la técnica e incluyen, por ejemplo, carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, etcétera. Los comprimidos, polvos, píldoras y cápsulas son todos

- 45 Las formas posológicas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Las preparaciones en forma líquida pueden administrarse mediante inyección o infusión intravenosa, intracerebral, intraperitoneal, parenteral o intramuscular. Las formulaciones inyectables estériles pueden comprender una solución o suspensión estéril del agente activo en un diluyente o solvente no tóxico, aceptable farmacéuticamente. Las formas posológicas líquidas también incluyen soluciones o espráis para administración intranasal, bucal o sublingual. Las preparaciones en aerosol adecuadas para inhalación pueden incluir soluciones y sólidos en forma de polvo que pueden combinarse con un soporte farmacéuticamente aceptable tal como un gas inerte presurizado.

- 50 También se abarcan formas posológicas para administración transdérmica que incluyen cremas, lociones, aerosoles y/o emulsiones. Estas formas posológicas pueden incluirse en parches transdérmicos de tipo matriz o reservorio, que son conocidos en la técnica en términos generales.

Las preparaciones farmacéuticas pueden prepararse de modo conveniente en forma posológica unitaria de acuerdo con procedimientos estandarizados de la formulación farmacéutica. La cantidad de compuesto activo por dosis

unitaria puede variar de acuerdo con la naturaleza del compuesto activo y del régimen de dosificación pretendido. Generalmente ésta estará dentro del intervalo desde 0.1 mg a 5000mg por dosis unitaria.

- 5 Aripiprazol, también llamado 7-[4-[4-(2,3-diclorofenil)-1-piperazinil]butoxi]-3,4-dihidro-2(1H)-quin- olinona, es un compuesto de carboestirilo y es útil para tratar esquizofrenia (EP 0 367 141, U.S. Pat. No. 5,006,528). Aripiprazol también es conocido como 7-[4-[4-(2,3-diclorofenil)-1-piperazinil]butoxi]-3,4-dihidrocarboestirilo, Abilify, OPC-14597, OPC-31 y BMS-337039. Aripiprazol poseen actividad de agonista de receptor 5-HT_{1A}, y es conocido como compuesto útil para tratar tipos de depresión y depresiones resistentes, tales como la depresión endógena, depresión grave, melancolía y similares (WO 02/060423, solicitud de patente estadounidense en 2002/0173513A1).
- 10 Aripiprazol tiene actividad como un agonista de los receptores de serotonina y receptores de dopamina, y actúa como un agonista o agonista parcial del receptor 5-HT_{1A} de serotonina y como un agonista o agonista parcial en el receptor D_{sub.2} de dopamina. Aripiprazol es un estabilizante del sistema dopamina-serotonina. Los metabolitos de aripiprazol se incluyen dentro del alcance de la presente invención. Un metabolito de aripiprazol de este tipo se llama dehidroaripiprazol. Los metabolitos preferidos de aripiprazol incluidos dentro de la presente invención se indican mediante las siguientes denominaciones: OPC-14857, DM-1458, DM-1451, DM-1452, DM-1454 y DCPD.
- 15 Aripiprazol y metabolitos de aripiprazol a ser usados en la presente invención pueden ser de cualquier forma, por ejemplo, bases libres, polimorfismo es de cualquier tipo de cristal, hidratos, sales (sales de adición de ácido, etcétera) similares. Entre estas formas, los cristales de aripiprazol anhidros B son una forma preferida. En cuanto al método para preparar cristales anhidros de aripiprazol B, por ejemplo, se prepara calentando hidratos de aripiprazol A, los detalles del mismo se muestran en WO2004/060374.
- 20 D'Agostino A. et al., Drugs of the Future 2008, vol. 33, no. 11, páginas 981-989 divulga fármacos utilizados en el tratamiento de la esquizofrenia, incluido el aripiprazol

La dosificación del fármaco usado en la presente invención se decide considerando las propiedades de cada fármaco componente que va a ser combinado, las propiedades de la combinación de fármaco y los síntomas del paciente.

- 25 Aripiprazol o un metabolito tal como dehidroaripiprazol, DM-1458, DM-1451, DM-1452, DM-1454 o DCPD, generalmente se utilizarán en una cantidad de aproximadamente 0.1 a 100 mg/una vez al día (o aproximadamente 0.05 hasta aproximadamente 50 mg/dos veces al día), y más preferiblemente en una cantidad de aproximadamente 1 a 30 mg/una vez al día (o aproximadamente 0.5 hasta aproximadamente 15 mg/dos veces al día). Por lo general, la proporción en peso de los cannabinoides al medicamento antipsicótico se decide considerando las propiedades
- 30 de cada fármaco componente que va a combinarse, las propiedades de la combinación de fármaco y los síntomas del paciente. Preferiblemente, la proporción en peso se encuentra en el intervalo de aproximadamente 1 parte por peso del cannabinoide hasta aproximadamente 0.01 a aproximadamente 500 partes en peso del antipsicótico, más preferiblemente 1 parte en peso del cannabinoide hasta aproximadamente 0.1 a aproximadamente 100 partes en peso del antipsicótico.
- 35 Más preferiblemente, CBD es un fito-cannabinoide que puede estar presente como un compuesto sintetizado, un compuesto aislado o como un extracto que contiene uno o más fito-cannabinoides distintos y otros constituyentes en cantidades variables. El extracto puede haber tenido cannabinoides individuales, tales como THC, selectivamente retirados por completo o en parte.

Ejemplos de extractos adecuados de fito-cannabinoide se ilustran en la tabla 1 a continuación:

- 40 Los componentes de extractos vegetales de THCV y CBD utilizados en los siguientes ejemplos se describen en la tabla 1 a continuación.

Tabla 1: componentes de extractos vegetales ejemplares de THCV y CBD

	Extracto rico en THCV (% p/p de extracto)	Extracto rico en CBD (% p/p de extracto)
Cannabinoide primario/secundario:		
Contenido de THC	NMT 20%	2.0 -6.5
Contenido de CBD		57.0 -72.0
Contenido de THCV	NLT 50%	-
Otros cannabinoides:		
Cannabigerol		0.8 -6.5

Cannabicromeno		3.0 -6.5
Ácido Tetrahidrocannabinólico		-
Cannabidivarina		1.0 -2.0
Ácido cannabidiólico		<2.0
Terpenos:		
Monoterpenos		0.4
Di/tri-terpenos		0.4
Sesquiterpenos		2.0

- La psicosis o el desorden psicótico a ser tratado se puede tomar del grupo de: esquizofrenia; desorden esquizofreniforme (episodio esquizofrénico agudo); desorden esquizoafectivo; desorden bipolar I (manía, desorden maniaco, psicosis maniaco-depresiva); desorden bipolar II; desorden depresivo grave con características psicóticas (depresión psicóticas); desórdenes de delirio (paranoia); desorden psicótico compartido (desorden de paranoia compartida); desorden psicótico breve (psicosis reactiva distinta y no especificadas); desorden psicótico no especificado de otra manera (psicosis no especificada); desorden de personalidad paranoide; desorden de personalidad esquizoide y desorden de personalidad esquizotípico.
- De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una formulación farmacéutica para uso en el tratamiento de la esquizofrenia el cual comprende cannabidiol (CBD) en combinación con aripiprazol para uso en el tratamiento de la psicosis o un trastorno psicótico en niños y/o jóvenes, para administración por separado, secuencial o simultáneamente que comprende además uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.
- Ciertos aspectos de esta invención se describen adicionalmente, con referencia a los siguientes ejemplos y datos en los cuales:
- la Fig 1 ilustra el régimen de dosificación en un experimento de abstinencia condicionada usando el cannabinoide CBD con el antipsicótico atípico aripiprazol APZ;
- la Fig 2 ilustra el régimen de dosificación en un experimento de abstinencia condicionada utilizando el cannabinoide THCV con el antipsicótico atípico aripiprazol;
- la Fig 3 ilustra los efectos de THCV, APZ y la combinación THCV y APZ a dosis individualmente sub-efectivas;
- la Fig 4 ilustra los efectos de THCV, APZ y la combinación THCV y APZ a dosis individualmente efectivas;
- la Fig 5 ilustra el régimen de dosificación usado en un estudio de catalepsia y ptosis con CBD y THCV respectivamente;
- la Fig 6a ilustra la acción de aripiprazol sólo;
- la Fig 6b ilustra el efecto de combinación con CBD;
- la Fig 6c ilustra el efecto de combinación con THCV;
- la Fig 7 ilustra el efecto de combinación de aripiprazol y CBD en ptosis inducida por aripiprazol; y
- la Fig 8 ilustra el efecto de combinación de aripiprazol y THCV en ptosis inducida por aripiprazol.
- Descripción específica
- Adicionalmente a los datos presentados en WO 2005/000830 y WO 2007/144628, cuyos datos indican que ciertos cannabinoides actúan como antipsicóticos per se, se encuentra presente en esta publicación mayor evidencia que soporta el uso de uno o más cannabinoides en combinación con un medicamento antipsicótico atípico que tiene más probabilidad de ser benéfico que el antipsicótico atípico solo.

Los ejemplos 1 y 2 describen el uso de una combinación del cannabinoide tetrahidrocannabivarina (THCV) y cannabidiol (CBD) en un modelo de ratón obeso inducido por la dieta para demostrar los efectos metabólicos de los cannabinoides y por medio de la implicación de beneficios potenciales para contrarrestar algunos efectos laterales comunes que resultan del uso de antipsicóticos atípicos. Estos ejemplos caen por fuera del alcance de la invención reivindicada y se incluyen solamente para comparación.

El ejemplo 3 describe como el cannabinoide es un agonista de PPAR γ , y proporciona mayor evidencia de los beneficios potenciales al contrarrestar algunos efectos laterales comunes que resultan del uso de antipsicóticos atípicos demostrando que los ligandos de PPAR γ tienen efectos benéficos en diabetes tipo 2 y el sistema cardiovascular. Este ejemplo cae por fuera del alcance de la invención reivindicada y se incluyen solamente para comparación.

Los ejemplos 4 y 5 son resultados obtenidos de estudios farmacológicos in vivo:

El ejemplo 4 es un estudio de respuesta de abstinencia condicionada que es un modelo animal para eficacia y examina combinaciones de aripiprazol con THCV;

El ejemplo 5 es un estudio de cataleptogenicidad que es un modelo animal para efectos secundarios extrapiramidales y examina combinaciones de aripiprazol con CBD (5a) y THCV (5b).

Ejemplo 1:

Se emprendió un estudio de dosificación individual aguda donde se dosificaron ratones obesos inducidos por dieta con cualquiera de:

- THCV puro (0.3mg/kg) + CBD BDS (CBD a 0.3mg/kg); o

- THCV puro (3.0mg/kg) + CBD BDS (CBD a 3.0mg/kg).

Ratones obesos inducidos por dieta son un modelo estandarizado utilizado para evaluar agentes que tienen la probabilidad de afectar los síntomas metabólicos que incluyen obesidad, diabetes tipo 1 o 2 y dislipidemia.

Los antagonistas de CB1 se están examinando como agentes potenciales anti-obesidad y se ha dado licencia a rimonabant. Rimonabant muestra efectos anti-obesidad en modelos humanos y de roedores. Aunque modelos de roedores se reduce la ingesta de alimento durante los primeros pocos días, el efecto anti-obesidad de largo plazo parece estar más relacionado con incrementos de gastos de energía, posiblemente mediados a través de la liberación incrementada de adiponectina del tejido adiposo.

THCV y CBD son productos naturales con actividad significativa en el receptor de CB1. El ejemplo descrito aquí fue diseñado para explorar la anti-obesidad y los efectos metabólicos consiguientes mediante medición de ingesta de alimento y cambio de peso corporal después de la dosis única de la combinación de cannabinoides.

Los animales fueron dosificados justo antes de quedar inconscientes y se midió la ingesta de alimento a 2h, 4h y 24h.

Resultados:

No hubo diferencia en el efecto después de una dosis única sobre el peso corporal de los animales del estudio, dosificados con la combinación de THCV y CBD en comparación con los animales de control después de la dosis única (datos no mostrados).

Sin embargo, hubo una reducción en la cantidad de alimento consumido durante 24 horas en los animales tratados con la combinación de THCV y CBD, tal como se muestra en la tabla 2 a continuación.

Tabla 2: Consumo de alimento

	Consumo de alimento (g / animal)		
	2 horas	4 horas	24 horas
Control	0.5	1.0	4.3
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	0.5	0.8	3.8
THCV + CBD (ambos 3. 0 mg/kg)	0.25	0.7	3.3

Como puede verse en los resultados de arriba, la dosis única de THCV y CBD combinados dio lugar a una reducción en la ingesta de alimento dentro de 4 horas de la administración. Esta reducción se observó todavía a 24 horas después de la dosis. La reducción en la ingesta de alimento fue más marcada en el grupo de dosis más alta.

Ejemplo 2:

5 Se emprendió un estudio de 28 días de dosificación crónica donde se dosificaron ratones obesos inducidos por dieta diariamente a las 09:00 mediante alimentación oral por gavaje (sonda gástrica) con cualquiera de:

- THCV puro (0.3mg/kg) + CBD BDS (CBD a 0.3mg/kg); o
- THCV puro (3.0mg/kg) + CBD BDS (CBD a 3.0mg/kg).

Los animales se aclimatizaron durante los días 1-2 del estudio y la dosificación inició el día 3.

10 Se tomaron medidas para proporcionar datos para lo siguiente:

- ingesta de alimento y agua (diariamente);
- peso corporal (dos veces a la semana);
- gasto de energía de 24 horas (días 3 y 10);
- ensayo de tolerancia a la glucosa aural (OGTT, carga de glucosa 3g/kg) en ratones que han ayunado 5 horas (días 7 y 21);
- respuesta térmica a una comida mixta (día 17)
- composición corporal (% de grasa corporal) por Dexascan en ratones anestesiados (día 28)
- medición de la longitud nariz-ano (día 28)
- muestra de sangre de ratones alimentados para medición de glucosa, lactato, insulina, triglicéridos, colesterol, HDL-colesterol (día 28);
- muestra de sangre de ratones en ayuno para medición de glucosa, ácidos grasos libres, insulina y adiponectina (día 30); y
- niveles de fármaco y nivel de endocannabinoides 2-3 horas después de la dosificación (día 30).

25 Es ventajoso conocer si efectos anti-obesidad cualesquiera son una pérdida de masa de grasa (deseable) o pérdida equilibrada de grasa y tejido magro (indeseable). Estos datos se lograron mediante una medición de Dexascan y medición de la concentración de leptina en plasma, lo cual se conoce por correlacionarse con la masa de tejido adiposo.

30 El gasto de energía se midió mediante calorimetría indirecta en dos ocasiones a fin de ver si existe tolerancia o un proceso de inducción. Adicionalmente a la velocidad metabólica en 24 horas, se determinó la respuesta térmica a una comida mezclada. Los estudios sobre rimonabant han mostrado un incremento de ARNm de adiponectina en tejido adiposo. Esta citosina se considera ahora un componente importante del sistema de balance de energía. Además, los ratones con eliminación de adiponectina son obesos y resistentes a la insulina y la administración de adiponectina recombinante a ratones obesos genéticos e inducidos por dieta reduce la masa de grasa y mejora la acción de la insulina. Por lo tanto, adiponectina puede ser un mediador de los procesos de desperdicio de energía.

35 La pérdida de grasa corporal y el incremento en el gasto de energía mejoran ambos la sensibilidad a la insulina. Esto se determinó a partir de concentraciones de glucosa e insulina en ratones con un ayuno de 5 horas y mediante medición de la tolerancia a la glucosa.

También se determinaron los efectos potenciales sobre lípidos en plasma.

Resultados:

40 Tabla 3: Gasto de energía después de 24 horas

	Gasto de energía (kJ / h / animal) AUC
Control	210
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	290

THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	310
------------------------------	-----

Tabla 4: Gasto de energía por kg después de 24 horas

	Gasto de energía (kJ / h / Kg) AUC
Control	4250
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	5750
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	6500

5 La combinación de THCV + CBD, de dosis tanto alta como también baja, incrementó el gasto de energía de los animales 24 horas después de la dosificación.

Tabla 5: Gasto de energía después de 3 horas

	Gasto de energía (kJ / h / animal) AUC
Control	14.0
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	21.5
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	25.0

Tabla 6: Gasto de energía por kg después de 3 horas

	Gasto de energía (kJ / h / Kg) AUC
Control	400
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	510
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	500

10

La combinación de THCV + CBD, de dosis tanto baja como alta, incrementó el gasto de energía 3 horas después de la dosificación.

Tabla 7: Ganancia de peso corporal

	Ganancia de peso corporal (g)
Control	8.5
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	9.5
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	9.0

15 Ni la dosis alta ni baja de la combinación de THCV + CBD redujo la cantidad de ganancia de peso corporal en comparación con el grupo de control.

Tabla 8: Ingesta de alimento por animal

	Ingesta de alimento (g / animal)
--	----------------------------------

Control	3.9
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	3.5
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	3.6

La ingesta de alimento acumulada generalmente se incrementó después del período de dosificación de 28 días en todos los grupos. La combinación de dosificación más baja de THCV + CBD produjo la ingesta más pequeña.

Tabla 9: Ensayo de tolerancia a glucosa

	Tolerancia a glucosa ([Glucosa en sangre] / animal)	
	Día 7	Día 23
Control	12	8
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	13	11
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	18	16

5

Tabla 10: Ensayo de tolerancia a la glucosa (AUC)

	Tolerancia a glucosa (OGTT AUC 0-120)	
	Día 7	Día 23
Control	2250	1950
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	2400	2200
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	2600	2500

La combinación de THCV + CBD tampoco mejoró la tolerancia glucosa de los animales estudiados.

Tabla 11: Insulina en plasma 30 minutos pre-dosificación

	Insulina en plasma ([insulina en sangre] pmol / L)	
	Día 7	Día 23
Control	9000	13000
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	7500	11000
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	12500	8500

10

Los niveles de insulina en plasma se mejoraron por la combinación de THCV + CBD de alta dosificación.

Tabla 12: Niveles de glucosa alimentados

	Niveles de glucosa ([glucosa en sangre] mmol / L)
Control	6.0
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	10.0
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	9.5

Tabla 13: Niveles de glucosa en ayunas

	Niveles de glucosa ([glucosa en sangre] mmol / L)
Control	6.0
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	6.8
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	7.0

Las concentraciones de glucosa en la sangre, alimentados y ayunas, se incrementaron en ambos grupos de estudio en comparación con el control.

5

Tabla 14: Grasa corporal total

	Grasa corporal	
	(g)	(%)
Control	33	62.0
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	33	61.5
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	31	60.0

La cantidad de grasa corporal en los animales tratados con la combinación de THCV + CBD tuvo una tendencia para reducción particularmente en la dosis más alta. Debe notarse que cualquier efecto puede haber sido enmascarado por una ingesta incrementada de alimento.

10

Tabla15: Longitud de nariz-ano

	Longitud (mm)
Control	92.3
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	92.5
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	91.7

Tabla 16: Niveles de triglicéridos

	Niveles de triglicéridos ([Triglicéridos en sangre] mmol / L)
Control	0.42
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	0.55
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	0.62

El nivel de triglicéridos se incrementó ligeramente con la dosis tanto alta como baja de THCV + CBD.

15

Tabla 17: Niveles de colesterol total

	Niveles de colesterol ([colesterol en sangre] mmol / L)
Control	5.5
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	7.2

	Niveles de colesterol ([colesterol en sangre] mmol / L)
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	4.1

Como puede verse arriba, la concentración de colesterol total en la sangre se redujo en gran medida por la dosis más alta de THCV + CBD combinados.

Tabla 18: Niveles de colesterol HDL

	Niveles de colesterol HDL ([colesterol HDL en sangre] mmol / L)
Control	2.00
THCV + CBD (ambos 0.3 mg/kg)	3.25
THCV + CBD (ambos 3.0 mg/kg)	3.00

5

La tabla arriba demuestra cómo la concentración de colesterol HDL en la sangre se incrementó dramáticamente por ambas dosis, la baja y la alta, de la combinación de THCV + CBD.

Conclusiones:

- THCV + CBD BDS puros reducen porcentaje de grasa corporal;
- 10 • THCV + CBD BDS puros incrementan significativamente el gasto de energía (dosis baja y alta);
- THCV + CBD BDS puros producen una mayor reducción en los niveles de colesterol total (dosis alta);
- THCV + CBD BDS puros produjeron un mayor incremento en niveles de colesterol HDL (niveles de dosis alta y baja).

Ejemplo 3:

- 15 El ejemplo descrito previamente investigó si los cannabinoides, cannabidiol (CBD) y tetrahidrocannabinavina (THCV), actúan por medio del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma (PPAR γ), el cual se conoce por activarse por Δ 9-tetrahidrocannabinol.

- 20 Agonistas de la isoforma de PPAR γ mejoran la sensibilidad a insulina y se usan con frecuencia en el manejo de diabetes tipo 2. Adicionalmente, se ha mostrado que en los agonistas de PPAR γ tienen efectos cardiovasculares positivos que incluyen evidencia in vitro de disponibilidad incrementada de óxido nítrico (NO), y reducciones in vivo en la presión sanguínea y atenuación de aterosclerosis.

- 25 Algunos de los efectos benéficos de ligandos de PPAR γ se producen por las acciones antiinflamatorias de la activación de PPAR γ , incluyendo la inhibición de citocinas proinflamatorias, incrementando citocinas antiinflamatorias, y la inhibición de la expresión de sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS). Por lo tanto, se piensa que el uso de ligandos de PPAR γ puede ser una opción de tratamiento útil en el manejo farmacéutico del síndrome metabólico o enfermedades y condiciones asociadas con un riesgo incrementado de síndrome metabólico y por lo tanto puede contrarrestar los efectos secundarios asociados con el uso de medicamentos antipsicóticos atípicos.

- 30 Los estudios vasculares in vitro se llevaron a cabo en aortas de rata aisladas mediante miografía de alambre. La activación de PPAR γ se investigó usando ensayos de gen reportero, un ensayo de enlazamiento de competición de PPAR γ y un ensayo de adipogénesis.

Tanto THCV como CBD se disolvieron en etanol a una concentración madre de 10 mM y se hicieron más de ilusiones usando agua destilada.

Resultados:

Efectos dependientes de tiempo de CBD y THCV en la aorta

- 35 CBD (10 μ M) causó una relajación significativa, dependiente del tiempo, de la aorta de rata en comparación con el control de vehículo en momentos en el transcurso de 2 horas (2 h, vehículo 19.7 ± 2.4 % cf CBD 69.7 ± 4.0 % de relajación, n=13, P<0.001. Después de 2 h, la relajación residual (el efecto vaso-relajante de CBD menos el efecto vaso relajante del vehículo y el tiempo) fue de 50.1 ± 3.3 % de relajación.

CBD no tuvo efecto en la tensión base durante el tiempo (2 h, vehículo -0.02 ± 0.01 g cf CBD -0.03 ± 0.01 g, $n=7$).

En aortas pre-contraídas, THCV (10 μM) no tuvo efecto en el tono hasta después de 105 minutos, y después de 120 min, la vaso relajación a THCV fue de 28.7 ± 4.6 % de relajación ($n=10$), en comparación con 15.1 ± 4.6 % ($P<0.01$) en arterias de control.

- 5 En la presencia del antagonista del receptor de PPAR γ GW9662 (1 μM), el efecto vaso relajante residual de CBD se redujo significativamente después de 1 hora de incubación. El efecto vaso relajante de CBD fue similar en la aorta despojada de endotelio y de control. De manera similar, en presencia de un inhibidor de sintasa de óxido nítrico, L-NAME (300 μM), el efecto vaso relajante residual antes de CBD no fue diferente de lo observado en condiciones de control.
- 10 El antagonista del receptor de CB $_1$ AM251 (1 μM) no afectó significativamente las respuestas vasculares dependientes del tiempo a CBD. El antagonista del receptor de CB $_2$ SR144528 (1 μM) inhibió significativamente los efectos vasorelajantes residuales de CBD entre 45 min a 90 min. Pretratando arterias ya sea con PTX (200 ng ml $^{-1}$, 2 h) o con capsaicina (10 mM, 1 h) no se tuvo un efecto sobre la respuesta vascular a CBD en el tiempo.
- 15 Cuando las arterias se contraen con un alto regulador de pH de potasio, no hay diferencia en el efecto vaso relajante de CBD en comparación con el control. Por contraste, en los vasos donde el tono fue inducido con U46619 en regulador de pH libre de calcio, el efecto vasorelajante de CBD se mitigó significativamente en comparación con el control.
- 20 La potencia y la respuesta máxima de contracción a la reintroducción de calcio en solución libre de calcio, alta en potasio, de Krebs-Hensleit se redujo significativamente, de una manera dependiente de concentración, la presencia de CBD desde 1 μM hasta 30 μM . El bloqueador de canales de calcio, verapamilo, causó vaso-relajación significativa de vasos pre-constreñidos como CBD, aunque con un inicio más rápido.

Efectos de tratamiento crónico de ratas con CBD sobre las respuestas vasculares en arterias aisladas

Los animales se trataron durante 2 semanas con cualquier vehículo o CBD, y se hicieron investigaciones de función arterial.

- 25 En vasos mesentéricos de pequeña resistencia, las respuestas máximas de contracción a metoxamina fueron significativamente más bajas en animales tratados con CBD que en animales tratados con vehículo (R_{max} 1.56 $\pm$ 0.13 g vs CBD 2.20 $\pm$ 0.13 g de incremento de tensión, $n=7$, $P<0.001$). El tratamiento con CBD causó un decremento adicional en la potencia de metoxamina (pEC_{50} veh 5.94 $\pm$ 0.08 vs CBD 5.79 $\pm$ 0.10, $P<0.05$).
- 30 La respuesta máxima a metoxamina en la aorta también fue significativamente más alta en animales tratados con vehículo (2.32 $\pm$ 0.20 g tensión de incremento, $n=6$) en comparación con animales tratados con CBD (1.63 $\pm$ 0.21 g tensión de incremento, $n=7$, $P<0.001$).
- El tratamiento repetido con CBD no afectó las respuestas vasos relajantes a la acetilcolina en arterias mesentéricas de pequeña resistencia. Sin embargo, en la aorta, el tratamiento con CBD redujo significativamente la potencia de acetilcolina (control de pEC_{50} 6.17 $\pm$ 0.31 vs tratados con CBD 5.37 $\pm$ 0.40, $n=6$, $P<0.01$).

35 Ensayos de transactivación transcripcional

Para determinar si CBD estimula PPAR γ , se realizaron ensayos de transactivación en células homólogas sobre expresando de modo transitorio PPAR γ y RXR α en combinación con un gen reportero de luciferasa (3xPPRE TK luc).

- 40 En estos ensayos, el agonista de PPAR γ sintético rosiglitazona (10 μM) estimuló significativamente la actividad transcripcional de PPAR γ en comparación con las células tratadas con el vehículo, transfectadas con todo el ADN (148 $\pm$ 7 cf 319 $\pm$ 7 de actividad relativa de luciferasa (por ng ml $^{-1}$ de proteína), $P<0.01$).

Igualmente, CBD también estimuló significativamente la actividad transcripcional de PPAR γ en comparación con células no tratadas a 10 μM (305 $\pm$ 18 de actividad relativa de luciferasa, $P<0.01$) y 20 μM (470 $\pm$ 37 de actividad relativa de luciferasa, $P<0.01$) de una manera dependiente de la concentración.

- 45 THCV no tuvo efecto en la actividad transcripcional de PPAR γ a ninguna concentración ensayada.

Inducción de diferenciación de adipocita

Se cultivaron células 3T3L1 hasta la confluencia y luego se trataron durante 8 días con CBD o con rosiglitazona. Las células se fijaron y se tiñeron con Oil Red O para identificar gotas de grasa, cuya presencia indica la diferenciación de fibroblastos en adipocitos. Las células no tratadas mostraron algunos signos de diferenciación, pero la mayoría de las células mantuvieron su forma de husillo con poca tinción de Oil Red O. Rosiglitazona indujo diferenciación de células 3T3 L1 en adipocitos, tal como se evidenció por grandes cantidades de tinción de Oil Red O que indica

- 50

acumulación de gotas de grasa dentro del citoplasma. En presencia de CBD, las señales de acumulación de gotas de grasa fueron evidentes en todas las concentraciones ensayadas de una manera dependiente de la concentración.

Conclusiones:

5 Estos datos proporcionan una evidencia fuerte de que CBD es un agonista de PPAR γ y sugieren medios novedosos por los cuales pueden producirse los efectos de CBD. A la luz de la evidencia emergente de que los ligandos de PPAR γ tienen efectos benéficos en la diabetes tipo 2, en el sistema cardiovascular y potencialmente en una amplia variedad de otros desórdenes que incluyen cáncer, desórdenes gastro-inflamatorios y muchas enfermedades de la piel, estos datos proporcionan evidencia de que los cannabinoides podrían ser útiles, entre otras cosas, en la prevención de los síntomas metabólicos asociados con el uso de fármacos antipsicóticos.

10 Ejemplo 4

Metodología

15 Se evaluó el comportamiento de abstinencia condicionada utilizando dos cajas lanzaderas automatizadas (46W x 19.5D x 20H cm, BIO MEDICA, Ltd) cada una colocada en una cámara de sonido atenuado. Cada ensayo consistió en un tono de advertencia de 10 segundos (tonos de 105 dB) como un estímulo condicionado (CS) seguido de un choque al pie de 10 segundos (1 mA) como un estímulo no condicionado (US) y un intervalo entre ensayos de 15 – 75 (45 en promedio) s. El US fue terminado cuando el animal salto el obstáculo desde un compartimiento hasta el otro o después de un tiempo de corte de 10 segundos. Cada rato se colocó en uno de los compartimientos de la caja lanzadera y se permitió explorarla libremente durante 1 minuto antes del primer ensayo. Durante la sesión de entrenamiento, se registraron tres clases de respuestas:

- 20 • si el cruce ocurrió en respuesta al CS solamente, se registró un CAR;
- si el cruce ocurrió durante el periodo en el cual se presentó el US, se registró una respuesta de escape;
- si la rata no pudo reaccionar, se registró una falla de escape (EF).

Animales

Especie/cepa: rata / Wistar

25 Proveedor: Japan SLC, Inc

Sexo: macho

Edad (en el momento de comenzar la sesión de entrenamiento): 6 semanas

30 Cuando el animal terminó exitosamente una tasa de abstinencia de 75% (15 CAR / 20 ensayos) durante 3 sesiones consecutivas de entrenamiento, se definió un CAR bien entrenado y se utilizó para evaluar los efectos de los compuestos el día siguiente.

El régimen de dosificación para CBD es tal como se ilustró en la figura 1 y para THCV se ilustra en la figura 2. (Vehículo 1: 5% de goma arábiga, vehículos 2: EtOH: chremohor : solución salina = 1 : 1 : 18)

CBD y THCV se sintetizaron y utilizaron en este ejemplo.

Resultados

35 Ejemplo 4

i) Efectos de aripiprazol APZ (7.5mg/kg po) y THCV (60mg/kg ip) a niveles sub- efectivos de dosis (cuando se usan solos).

Los resultados se mostraron en la figura 3 que es un gráfico de barras que muestra el efecto de:

- Vehículo 1 y vehículos 2;
- 40 • APZ y vehículo 2
- THCV y vehículo 1; y
- APZ y THCV.

De manera sorprendente se detectó un efecto de combinación.

*p < 0.05, **p < 0.01 (vs grupo de combinación) mediante ensayo de Dunnett de 2 colas, n = 9 - 10

Vehículo 1: 5% de goma arábica

Vehículo 2: EtOH: chremohor : solución salina = 1 : 1 : 18

ii) Efecto de aripiprazol APZ (15mg/kg po) y THCv (60mg/kg ip) a niveles efectivos de dosis (cuando se utiliza APZ solo)

5 Los resultados se ilustran en la figura cuatro que es un gráfico de barras que muestra el efecto de:

- Vehículo 1 y vehículo 2;
- APZ y vehículo 2
- THCv y vehículo 1; y
- concentración de APZ y THCv.

10 Una vez más se observó un efecto de combinación en estas dosis sobre CAR.

*p < 0.05, **p < 0.01 (vs grupo de combinación) mediante ensayo de Dunnett de 2 colas, n = 12

#p < 0.05 (vs grupo de vehículos 1+2) mediante ensayo de Dunnett de 2 colas

Vehículo 1: 5% de goma arábica,

Vehículo 2: EtOH: chremohor : solución salina = 1 : 1 : 18

15 Ejemplo 5

Efecto de CBD y THCv en la catalepsia (5a) y ptosis (5b)

Metodología

Animales

Especie/cepa: rata / Wistar

20 Proveedor: Japan SLC, Inc

Sexo: Macho

Edad (al día del ensayo): 6 - 7 semanas

Los animales se sometieron a un protocolo tal como se ilustra en la figura 5.

Vehículo 1: 5% de goma arábica,

25 Vehículo 2: EtOH: chremohor : solución salina = 1:1:18

Se hizo ayunar a las ratas desde las 6 PM del día antes del experimento hasta el sacrificio. Las ratas se pesaron y se les administró oralmente (PO) aripiprazol. Después, se inyectó en las ratas aripiprazol. Luego a las ratas se inyectaron cannabinoides (CBD y THCv) por vía intraperitoneal (IP) 1 hora después de la administración de aripiprazol. Se observaron catalepsia y ptosis a 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración de aripiprazol. Para la medición de catalepsia, se realizaron observaciones tres veces en cada momento de la observación. Los animales fueron forzados a colgar de su pata anterior derecha sobre el borde superior de un bote de acero (diámetro: 6 cm, altura: 10 cm). Cuando los animales permanecieron en la posición vertical no natural durante 30 segundos o más, se evaluó que tenían una respuesta positiva a la catalepsia.

30 La medición de ptosis fue realizada tal como sigue. Cada animal se tomó individualmente de la jaula y se puso en la mano del experimentador para observar los ojos. La evaluación de ptosis se determinó para ambos ojos tal como se describe más adelante, y se adicionaron las evaluaciones para los dos ojos con el fin de obtener la evaluación total (evaluación máxima: 8)

0: Normal

1: ptosis suave (párpado superior cubría 1/4 del ojo)

40 2: ptosis moderada (párpado superior cubría 1/2 del ojo)

3: ptosis severa (párpado superior cubría 3/4 del ojo)

4: ptosis completa (párpado superior cubría todo el ojo)

Resultados

Ejemplo 5a

5 Los resultados a diferentes dosis se muestran gráficamente en las figuras 6a/ 6b (APZ/CBD) y las figuras 6a/6c (APZ/THCV).

Comparando Fig 6a con Fig 6b es evidente que CBD (120 mg/kg, ip) redujo significativamente la catalepsia inducida por aripiprazol en las ratas (total, $p = 0.0286$; 8hr, $p = 0.0339$, mediante ecuaciones de estimación generalizadas). Es decir que se detectó un efecto de combinación.

$n = 8$,

10 Vehículo 1: 5% de goma arábica, Vehículo 2: EtOH: chremohor : solución salina = 1:1:18

De manera similar, comparando la Fig 6a con la Fig 6c es evidente que THCV (60 mg/kg, ip) redujo significativamente la catalepsia inducida por aripiprazol en ratas (total, $p = 0.0073$; 8hr, $p = 0.0060$, mediante ecuaciones de estimación generalizadas). Es decir que se detectó un efecto de combinación.

$n = 8$,

15 Vehículo1: 5% goma arábica, Vehículo 2: EtOH: chremohor : solución salina = 1:1:18

CBD y THCV se sintetizaron y utilizaron en este ejemplo.

Ejemplo 5b

Los resultados se mostraron nuevamente de modo gráfico en las figuras 7 (CBD) y 8 (THCV).

20 De la figura 7 es evidente que CBD (120 mg/kg, ip) redujo significativamente la ptosis inducida por aripiprazol en ratas (fármaco (CBD), $p < 0.01$; interacción, $p < 0.01$, mediante ANOVA de 2 vías). Es decir que se detectó un efecto de combinación.

$**p < 0.01$ mediante el ensayo de Wilcoxon Rank Sum con corrección de Bonferroni, $n = 8$,

Vehículo 1: 5% de goma arábica,

Vehículo 2: EtOH: chremohor : de solución salina = 1 : 1 : 18

25 De modo similar, de la figura 8 es evidente que THCV (60 mg/kg, ip) redujo significativamente la ptosis inducida por aripiprazol en ratas (fármaco (THCV), $p < 0.01$; interacción, $p < 0.01$, mediante ANOVA de 2 vías). Es decir que se detectó un efecto de combinación.

$*p < 0.05$ mediante el ensayo de Wilcoxon Rank Sum con corrección de Bonferroni, $n = 8$,

Vehículo 1: 5% de goma arábica,

30 Vehículo 2: EtOH: chremohor : solución salina = 1 : 1 : 18

CBD y THCV se sintetizaron y utilizaron en este ejemplo.

35 Estos ejemplos, conjuntamente con la evidencia reportada previamente, demuestran cómo el uso de una cantidad de fito-cannabinoides diferentes, en combinación con medicamentos antipsicóticos, pueden ser un tratamiento más benéfico que el uso de la medicación antipsicótica sola ya que pueden permitir la reducción o la remoción de efectos indeseables de los fármacos antipsicóticos y además pueden proporcionar efectos antipsicóticos adicionales.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica para uso en el tratamiento de la esquizofrenia, la cual comprende cannabidiol (CBD) en combinación con aripiprazol, para la administración por separado, secuencial o simultáneamente que comprende uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.
- 5 2. Una formulación farmacéutica para uso en el tratamiento de la esquizofrenia de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el CBD está presente en forma de un extracto vegetal de cannabis, el cual dependiendo de la composición del extracto tiene retirado selectivamente todo o una porción de tetrahidrocannabinol (THC) o ácido tetrahidrocannabinólico (THCA).
- 10 3. Una formulación farmacéutica para uso en el tratamiento de la esquizofrenia de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el CBD está en forma de una sustancia fármaco botánica.
4. Una formulación farmacéutica para uso en el tratamiento de la esquizofrenia de acuerdo con la reivindicación 3, en la que la sustancia fármaco botánica comprende todos los fitocannabinoides naturales en la planta.
5. Una formulación farmacéutica para uso en el tratamiento de la esquizofrenia de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el CBD está en forma pura.
- 15 6. Una formulación farmacéutica para uso en el tratamiento de la esquizofrenia de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el CBD está en una forma aislada.
7. Una formulación farmacéutica para uso en el tratamiento de la esquizofrenia de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el CBD está en forma sintética.
- 20 8. Una formulación farmacéutica para uso en el tratamiento de la esquizofrenia de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la formulación es para uso en niños y/o jóvenes.

Fig 1

Aripripazol (PO) + CBD (IP) en CAR

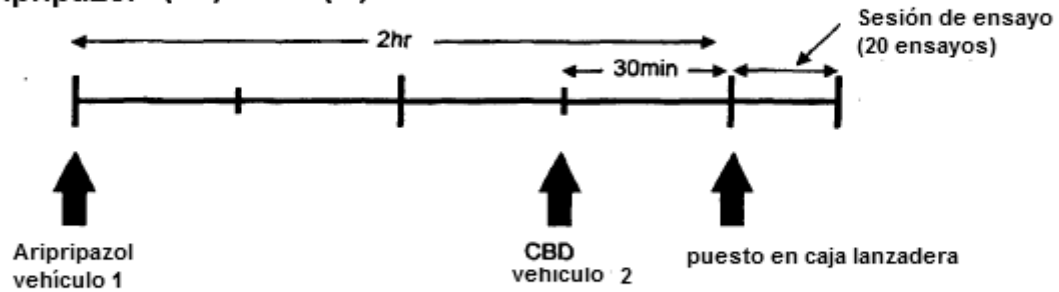


Fig 2

Aripripazol (PO) + THCV (IP) en CAR

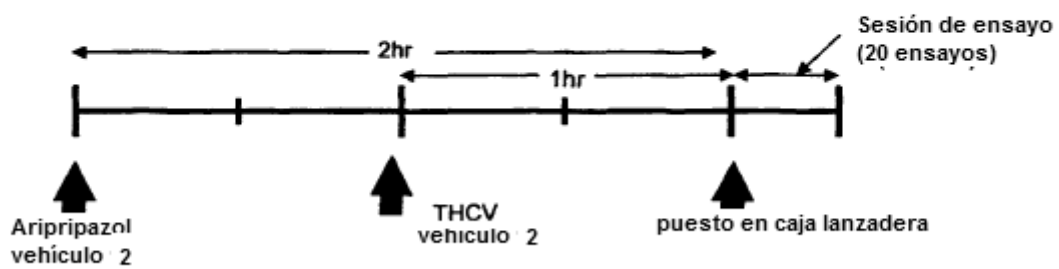


Fig 3

Efecto de combinación de aripiprazol y THCv en CAR (1)

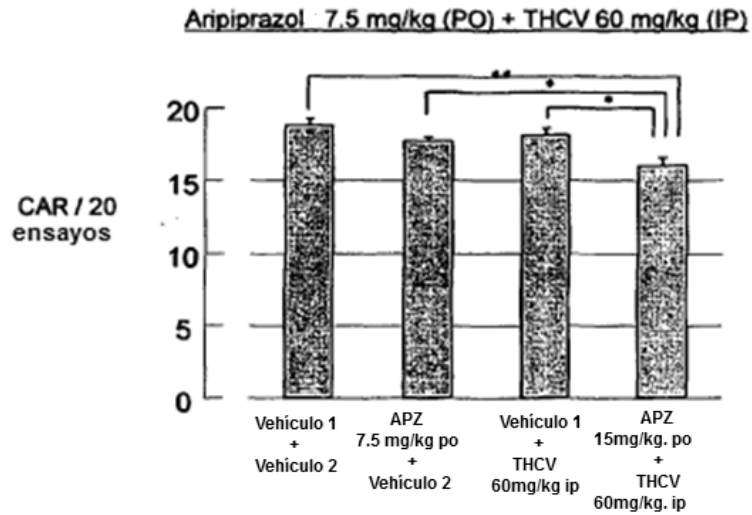


Fig 4

Efecto de combinación de aripiprazol y THCv en CAR (2)

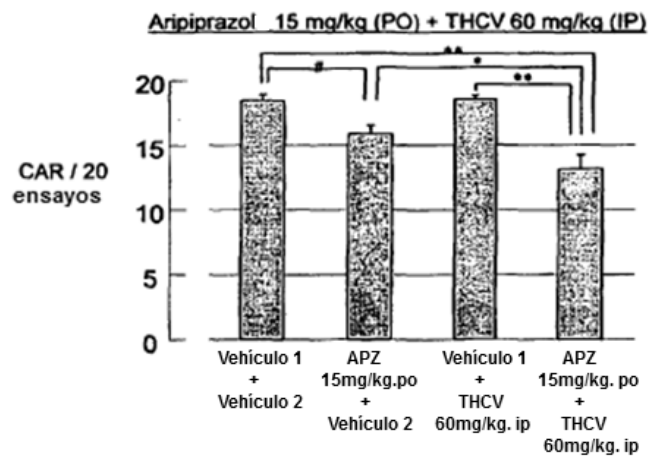


Fig 5

Aripiprazol (PO) + CBD/THCV sobre la catalepsia y la ptosis

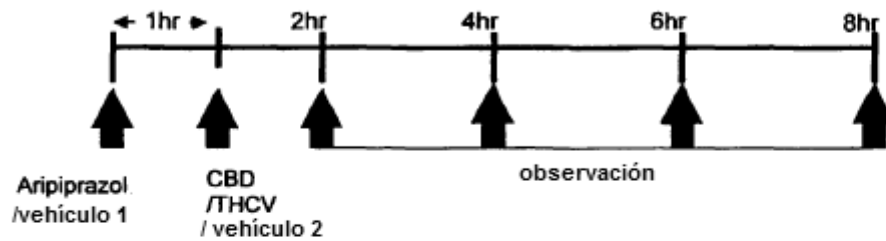


Fig 6a

Efecto de combinación de CBD / THCV en la catalepsia inducida por aripiprazol

Aripiprazol: 30, 60, 120 mg/kg (PO) + Vehicle 2

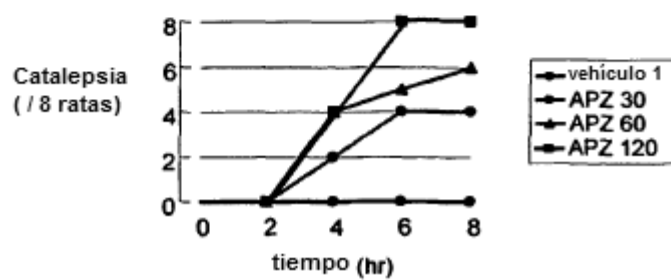


Fig 6b

Efecto de combinación de CBD / THCV en catalepsia inducida por aripiprazol

Aripiprazol 30, 60, 120 mg/kg (PO) + CBD 120 mg/kg (IP)

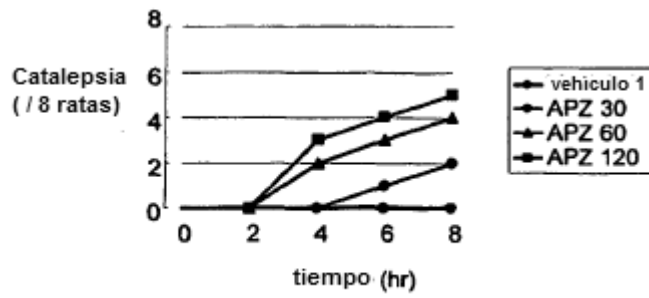


Fig 6c

Efecto de combinación de CBD/THCV en catalepsia inducida por aripiprazol

Aripiprazol 30, 60, 120 mg/kg (PO) + THCV 60 mg/kg (IP)

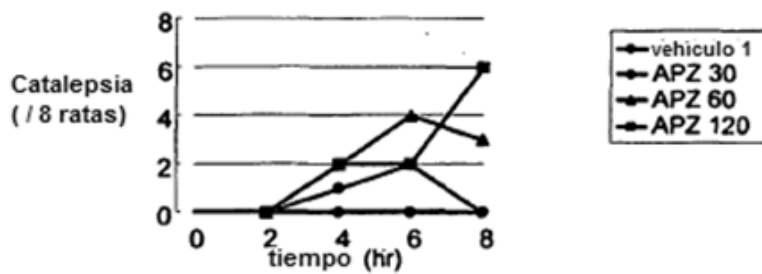
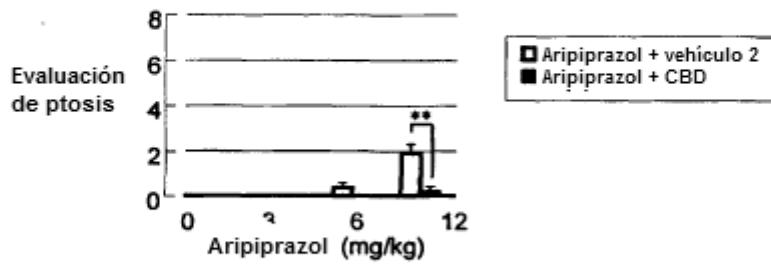


Fig 7**Efecto de combinación de CBD en ptosis inducida por aripiprazol**

Aripiprazol 30, 60, 120 mg/kg (PO) + CBD 120 mg/kg (IP)

**Fig 8****Efecto de combinación de THCV en ptosis inducida por aripiprazol**

Aripiprazol 30, 60, 120 mg/kg (PO) + THCV 60 mg/kg (IP)

