



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
CANNABINOIDES EN EL TRATAMIENTO DEL
GLAUCOMA. RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD**

Autor: Alberto Machicado Llorente

Fecha: Febrero 2019

Tutor: Carmen Luisa del Campo Pérez

ÍNDICE

RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN	2
<i>Glaucoma</i>	2
<i>Cannabinoides</i>	5
OBJETIVOS.....	7
METODOLOGÍA.....	7
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
<i>Aplicaciones de los cannabinoides en el glaucoma</i>	7
<i>Relación Estructura-Actividad</i>	10
CONCLUSIONES	16
BIBLIOGRAFÍA.....	16

RESUMEN

El glaucoma es una neuropatía óptica progresiva e irreversible. Aunque su patogénesis no es del todo conocida, hay dos conceptos fundamentales: el daño en el nervio óptico y la activación de astrocitos. Entre los principales factores de riesgo de esta patología destacan el aumento de la presión intraocular y la disminución del flujo sanguíneo ocular. Los cannabinoides, además de sus propiedades analgésicas, antieméticas, antitumorales y cardioprotectivas, han demostrado tener aplicaciones en el tratamiento del glaucoma. A nivel ocular se van a encontrar tanto receptores de cannabinoides (CB₁ y CB₂) como enzimas implicadas en la síntesis y metabolismo de estos compuestos. Los principales endocannabinoides son la anadamida (AEA) y el 2-acil-glicerol (2-AG).

Los cannabinoides han demostrado ser capaces de reducir la presión intraocular a través de diferentes vías, aunque la principal sería mediante su unión a los receptores CB₁, los cuales están implicados en la producción y excreción del humor acuoso. Además, los cannabinoides poseen propiedades neuroprotectoras, debidas fundamentalmente a la inhibición de la liberación del glutamato (neurotransmisor excitatorio) y a su acción vasodilatadora. Respecto a la unión entre cannabinoides y sus receptores, va a ser más determinante el factor estérico que el factor electrostático. Muchos de estos compuestos presentan efecto narcótico y provocan tolerancia, lo que supone una dificultad importante en el desarrollo de medicamentos. Sus efectos adversos son reducidos.

Palabras clave: *presión intraocular, neuroprotección, glaucoma, cannabinoide, CoMFA, CoMSIA, astrocitos, nervio óptico, contour map, glutamato.*

INTRODUCCIÓN

GLAUCOMA

El Glaucoma, una de las principales causas de ceguera legal en el mundo, es una neuropatía óptica progresiva que avanza paulatinamente, provocando la degeneración de las células de la retina de forma gradual e irreversible. Tiene como consecuencia una pérdida de tejido neural, la activación de células gliales (astrocitos), remodelación del tejido (debido al aumento de las MMPs) y alteración del riego sanguíneo.

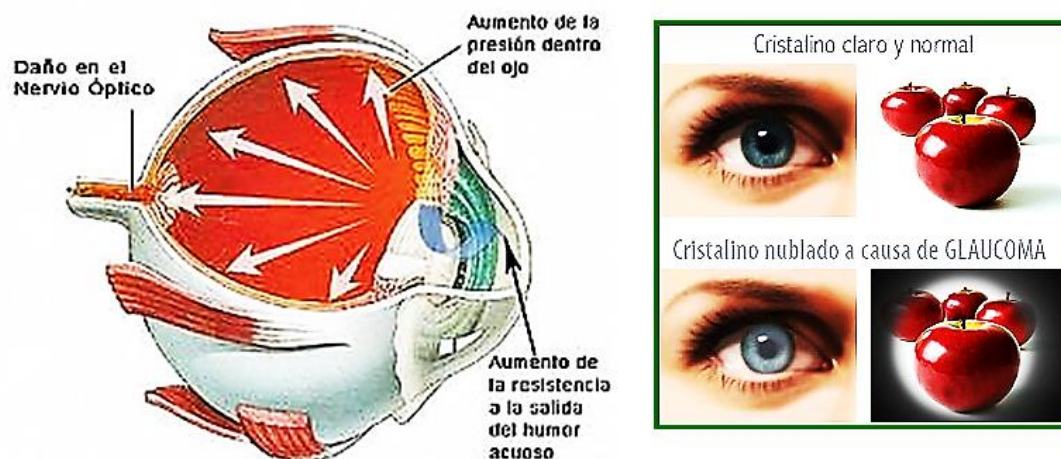


Figura 1. Esquema anatómico del ojo (izquierda) y cristalino *normal* vs. cristalino *nublado* (derecha).

El glaucoma implica no solo la pérdida de células ganglionares de la retina y sus axones, sino también de células del núcleo geniculado lateral e incluso de la corteza visual.¹

La activación de células gliales es una respuesta no específica al estrés (mecánico, isquémico o de otro tipo). Dicha activación supone, por un lado, un cambio en la expresión génica, que se traduce en un aumento de la expresión de la NOS-2, COX-2 y TNF- α . Por otro lado, se van a producir cambios en la morfología, afectando incluso a la división y migración celular. Las principales células gliales en la retina son los astrocitos y las células de Müller, estando ambas activadas en pacientes con glaucoma.²

La erosión de la cabeza del nervio óptico (CNO) es específica del glaucoma. Dicha erosión supone, primero, la pérdida de tejido neural y, segundo, una remodelación de la CNO que conduce a una inclinación y compresión de la lámina cribosa. De hecho, enzimas importantes en la remodelación tisular como las metaloproteasas (MMPs) están sobreexpresadas tanto localmente, a nivel de la CNO, como sistémicamente en los linfocitos circulantes.³

Si un tejido se atrofia, los vasos sanguíneos degeneran como consecuencia. Esta reducción secundaria del flujo sanguíneo ocular (FSO) puede observarse en pacientes con glaucoma. El FSO puede verse igualmente reducido cuando la disminución de la presión de perfusión supera la capacidad de autorregulación. Por último, esta reducción podría tener un carácter primario. Diferentes estudios demuestran que la reducción en el FSO permite predecir la futura progresión de la lesión, siendo, por tanto, de gran relevancia clínica.¹

Los principales factores de riesgo para el glaucoma podrían ser el incremento de la presión intraocular (PIO), la disminución del flujo sanguíneo ocular y presencia de vasoespasmos oculares. La PIO está determinada por la velocidad de producción del humor acuoso (HA) en el epitelio del cuerpo ciliar y por la resistencia o dificultad en su drenaje a través de las estructuras del ángulo de la cámara anterior y la uveoescleral. Aunque su aumento es un factor muy importante en el agravamiento del glaucoma, llegando a producir un cambio característico de la pupila y un deterioro importante del campo visual, no todos los sujetos con un incremento de la PIO llegan a presentar lesión, y un número significativo de pacientes con glaucoma nunca experimenta un incremento de la PIO. No obstante, las terapias que disminuyen la PIO mejoran el pronóstico de todos los tipos de glaucoma. Por otra parte, hay una abrumadora evidencia de que la hipotensión arterial sistémica es también un importante factor de riesgo para el glaucoma. Otros factores de riesgo serían el sexo femenino y la etnia (ocurre más frecuentemente en japoneses).^{1,4}

Como se ha dicho anteriormente, los pacientes con glaucoma en general presentan un FSO disminuido y esto tiene un importante valor predictivo. En patologías como la esclerosis múltiple, el FSO se ve también reducido. Sin embargo, en este caso el nervio óptico no está erosionado en una proporción mayor a la de los controles sanos. Esto podría deberse a que lo determinante no sería el descenso en el FSO sino la inestabilidad de éste, la cual conduciría a una suave pero repetida perfusión.

La perfusión se refiere a la lesión en un tejido producida cuando el flujo sanguíneo se restablece tras un periodo de isquemia. La ausencia de nutrientes y oxígeno en los tejidos origina una situación en la que la restauración de la circulación provoca inflamación y daño oxidativo.¹

Las metaloproteasas (MMPs) son enzimas que digieren la matriz extracelular. La MMP-2 y la MMP-9 están sobreexpresadas en los astrocitos de la CNO de pacientes con glaucoma. Esta última también lo está en los linfocitos circulantes. La causa más probable de su activación es el estrés oxidativo. La MMP-9 es un prerrequisito para la apoptosis de las células ganglionares de la retina. Además, está implicada en la remodelación tisular de la CNO.^{1,5}

La patogénesis del glaucoma no está totalmente establecida pero hay dos conceptos que parecen fundamentales: daño en los axones y activación de los astrocitos. El daño en los

axones es principalmente causado por una perfusión inestable. La reducción en el riego sanguíneo puede tener un componente primario. Por otro lado, el estrés mecánico (por ejemplo el aumento de la PIO) activa los astrocitos por estimulación de los factores de crecimiento (EGFR) y estos pueden modificar niveles enzimáticos (NOS-2, COX-2). Los astrocitos son activados también por endotelinas, que pueden reducir la circulación sanguínea y el transporte a través del axón. La sobreexpresión de la NOS-2 provoca un aumento de NO, especie que no es lesiva por sí misma, pero puede combinarse con el radical superóxido, cuya concentración está incrementada a causa de la perfusión, para formar peroxinitrito (ONOO⁻). Tanto el radical superóxido como el ONOO⁻ inducen la apoptosis de neuronas. Paralelamente a esta pérdida de tejido nervioso se produce una remodelación tisular como consecuencia de las MMPs.¹

CANNABINOIDES.

Los cannabinoides son un grupo de al menos 66 terpenofenoles biológicamente activos presentes en el cannabis y sus productos, al igual que sus análogos sintéticos capaces de interactuar con los receptores de cannabinoides. Los principales son el Δ^9 -tetrahidrocannabinol **(1)** (THC), su isómero Δ^8 -tetrahidrocannabinol **(2)** (Δ^8 -THC), el cannabinol **(3)** y el cannabidiol **(4)** (CBD). El de mayor potencia psicoactiva es el THC. La psicoactividad del cannabinol es mucho menor, mientras que la del cannabidiol es nula.⁶

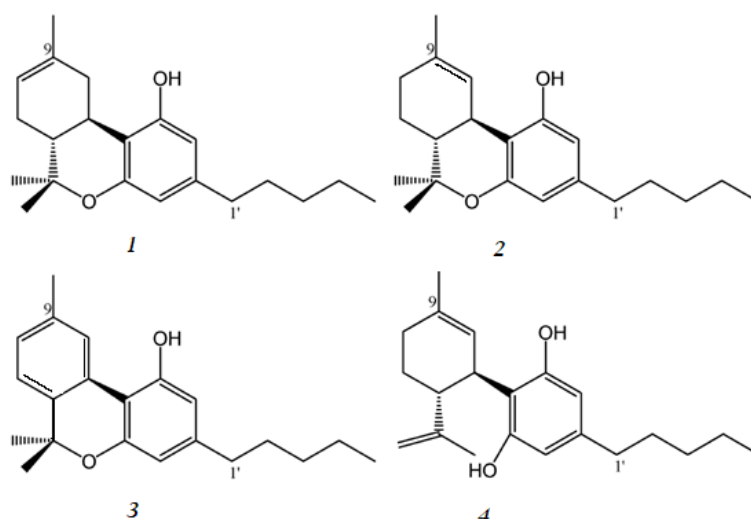


Figura 2. Estructura de **(1)** THC, **(2)** Δ^8 -THC, **(3)** cannabinol y **(4)** CBD.

Existen dos receptores cannabinoides (CB₁ y CB₂), si bien existen compuestos capaces de unirse a los receptores vaniloides. Tanto el receptor CB₁ como el CB₂ son receptores

acoplados a proteínas G, que modulan la transducción e la señal e inhiben la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS). La mayor concentración de receptores CB₁ se encuentra en el sistema nervioso central, incluida la corteza cerebral, aunque están también presentes en el sistema nervioso periférico, hipófisis, órganos reproductivos, corazón, pulmones y tracto gastrointestinal. La presencia de los receptores CB₁ en el sistema nervioso central podría explicar los efectos psicoactivos de lo cannabinoides. Además, hay evidencias claras de una relación directa entre la afinidad de los cannabinoides por los receptores CB₁ y su potencial narcótico. Los receptores CB₂ se localizan principalmente en la superficie de las células del sistema inmune, interviniendo en la respuesta inmune.^{6,7}

Estudios en animales y diferentes ensayos clínicos revelan que los agonistas de los receptores CB₁, además de una potente acción analgésica, poseen propiedades antieméticas, antitumorales, cardioprotectivas y estimulan el apetito. Puede usarse también para el tratamiento de la esclerosis múltiple y el glaucoma. No obstante, se requieren más estudios enfocados en la separación de los efectos terapéutico y narcótico, ya que éste supone un importante obstáculo para el uso terapéutico de los cannabinoides. Los agonistas de los receptores CB₂ presentan actividad antiinflamatoria e inmunosupresora.⁸

El descubrimiento de receptores cannabinoides motivó la búsqueda de ligandos endógenos que pudieran unirse a ellos. Los endocannabinoides son aminas o ésteres de ácidos grasos de cadena larga. Los más estudiados son la anadamida (AEA) y el 2-acilglicerol (2-AG). El conjunto de todos los endocannabinoides, los receptores a los que se unen y las proteínas que sintetizan, transportan o hidrolizan es conocido como sistema cannabinoide endógeno.⁶

Los cannabinoides se podrían agrupar mediante la siguiente clasificación:

1. Cannabinoides clásicos.
2. Cannabinoides no clásicos.
3. Cannabinoides híbridos.
4. 3-Carbonilindoles.
5. 3-Carbonilindazoles.

6. Eicosanoides.
7. Cannabinoides misceláneos-

Por supuesto, dado que nuevos cannabinoides sintéticos emergen continuamente, esta clasificación debe ser permanentemente revisada y actualizada.⁶

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica sobre las aplicaciones de los cannabinoides en el tratamiento del glaucoma y la relación estructura-actividad de dichos compuestos.

METODOLOGÍA

Se procedió a la búsqueda bibliográfica de artículos y estudios sobre la patogénesis y los factores de riesgo del glaucoma, los cannabinoides y su uso para tratar y prevenir el glaucoma. Además, se consultaron estudios acerca de su relación estructura-actividad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

APLICACIÓN DE LOS CANNABINOIDES EN EL GLAUCOMA.

El sistema endocannabinoide del ojo ha sido estudiado en numerosas ocasiones. Éstos muestran que, aunque se ha descrito la presencia de ambos tipos de receptores (CB₁ y CB₂), el receptor CB₁ es el principalmente expresado a nivel ocular. La mayor concentración de CB₁ a este nivel se encuentra en el epitelio corneal, endotelio corneal, red trabecular, epitelio corneal, músculo ciliar, epitelio ciliar y el epitelio ciliar no pigmentado. Los cannabinoides modulan la liberación de neurotransmisores en la retina como la dopamina, glutamato, GABA y noradrenalina. El sistema cannabinoide desempeña un papel fundamental en la fototransducción y en la adaptación a la luz y oscuridad.⁹

Enzimas responsables de la síntesis de endocannabinoides como la N-acil fosfatidiletanolamina fosfolipasa y la diacilglicerol lipasa (DAGL) han sido encontradas en la retina de roedores y otros mamíferos. También han sido encontradas enzimas

encargadas de su degradación tales como la ácido graso amida hidrolasa (FAAH), la monoacilglicerol lipasa (MGL) y por la ciclooxigenasa-2 (COX-2).¹⁰

Diversos compuestos cannabinoides han demostrado ser capaces de reducir la presión intraocular a través de diferentes vías de administración, como ocurre por ejemplo con el Δ^9 -THC por vía oral, intravenosa, sublingual y tópica. Por ejemplo, la administración tópica de WIN-55-212-2, un cannabinoide sintético capaz de unirse tanto al receptor CB₁ como al CB₂, disminuye la PIO en ratas con glaucoma sin ningún síntoma psicótropo. También se ha demostrado la capacidad de los endocannabinoides para reducir la PIO sin efectos tóxicos. En un estudio normalizado, 9 pacientes fueron tratados con marihuana inhalada o con cápsulas cada 4 horas. Todo ellos presentaron un descenso de la PIO. Sin embargo, 7 de ellos dejaron de experimentar este efecto debido a tolerancia al tratamiento.^{9,11,12}

Aunque el mecanismo exacto por el cual los cannabinoides son capaces de reducir la PIO no se conoce, se han identificado receptores CB₁ en el ojo implicados en la producción y excreción del humor acuoso. El descenso de la PIO se debería principalmente, por tanto, a la interacción con los receptores CB₁ y no al receptor CB₂. Esta afirmación es apoyada por el hecho de que el efecto hipotensor del WIN-55-212-2 es inhibido por la administración previa de un antagonista de los receptores CB₁ pero no es inhibido por un antagonista de los receptores CB₂. Además, la reducción dosis-dependiente de la PIO del HU-211, uno de los cannabinoides sintéticos no psicoactivos más potentes, es inhibida por el propanolol. El propanolol es un antagonista β -adrenérgico que no tiene afinidad por los receptores CB₁ ni CB₂. Esto significa que el efecto hipotensor a nivel ocular podría deberse no solo a los receptores cannabinoides principales. Numerosos estudios han demostrado el efecto neuroprotectivo de los cannabinoides en enfermedades neurodegenerativas del sistema nervioso central como el Parkinson, Alzheimer y Esclerosis Múltiple.^{9,13}

Esta neuroprotección se produce mediante diferentes mecanismos de acción. Uno de ellos es la activación de los receptores CB presinápticos, lo que inhibiría la liberación de glutamato, mejorando el control de la excitabilidad neuronal y regulando la espasticidad sináptica. La activación del receptor CB₂, por un lado, modula la inflamación neuronal

debida a macrófagos, microglía y células dendríticas y, por otro, favorece la producción de endocannabinoides (AEA y 2-AG). Además, hay evidencias de que el efecto neuroprotectivo tiene lugar también a través de otros receptores distintos al CB₁ y CB₂.

14

En el glaucoma, los niveles intravitreales de glutamato están incrementados. El glutamato es un neurotransmisor excitatorio que, a través de la activación de los receptores NMDA como de otros no NMDA, aumenta los niveles de calcio intracelular con la consecuente activación de la óxido nítrico sintasa. Esto origina la liberación de radicales nitrogenados, produciéndose la muerte de células ganglionares de la retina.

La activación de los receptores CB₁ podrían inhibir los canales de calcio voltaje-dependientes y activar los canales de potasio, y así tendría lugar la inhibición de la liberación de glutamato.¹⁰

En la retina de los pacientes con glaucoma tiene lugar una isquemia debida a la hipertensión ocular. Esto produce un aumento de la expresión de la FAAH, enzima que degrada los cannabinoides. Como consecuencia, se produce una disminución en los niveles de EAE intravitreales, lo que desemboca en un aumento de la PIO. Así, inhibidores selectivos de la FAAH como el URB597 produce una reducción de la PIO y previene la muerte de células ganglionares de la retina.¹⁰

El déficit del riego sanguíneo ocular va a provocar situaciones de hipoxia, aumentando, así, el daño en la retina de pacientes con glaucoma. Esto podría prevenirse gracias al efecto vasodilatador de los cannabinoides, el cual es debido en parte a la inhibición de la acción de la endotelina-1.

La neuroprotección de estos compuestos podría deberse también a sus propiedades antiinflamatorias. La activación de los receptores CB₁ y CB₂ en el SNC y en la retina modulan la activación y migración de las células de la microglia e inhiben la producción óxido nítrico y citoquinas inflamatorias.¹⁰

Por último, el hecho de que la actividad neuroprotectiva de los cannabinoides no se debe exclusivamente a la activación de los receptores CB₁ queda ratificada por el hecho de que el CBD, un cannabinoide no psicoactivo que no tiene afinidad por los receptores CB₁,

presenta también un efecto neuroprotector evitando la formación de nitrotirosina e inhibiendo la degradación del EAE.^{9,10}

La aplicación tópica sería la vía de administración más conveniente de cannabinoides en el tratamiento del glaucoma para evitar los posibles efectos sistémicos. Debido a su alta liposolubilidad deben utilizarse disolventes lipofílicos como el etanol, dimetil, sulfóxido, Tween 80, cremofor, albúmina sérica bovina o Tocrisolve.⁹

Los efectos adversos de la administración tanto tópica como sistémica de los cannabinoides son muy reducidos. Entre los de mayor magnitud destacan taquicardia, hipotensión ortostática y euforia. Podemos hablar de efectos respiratorios, hormonales y neurológicos. La marihuana inhalada puede producir cambios enfisemáticos en el pulmón como consecuencia de los productos de combustión. La aplicación tópica puede causar midriasis, quemosis, opacificación corneal severa y neurotoxicidad.^{9,10}

RELACION ESTRUCTURA-ACTIVIDAD

La relación estructura-actividad se explicará siguiendo un estudio (*3D-QSAR Studies for Novel Cannabinoid Ligands, Journal of Medicinal Chemistry, 2007, Vol. 50, No. 12*) en el cual se procedió al análisis 3D-QSAR CoMFA (comparative molecular field analysis) y 3D-QSAR CoMSIA (comparative molecular similarity indices analysis) de nuevos análogos de CBs derivados del Δ^8 -THC y CBD. Cada modelo 3D-QSAR generado permite predecir los valores de afinidad de los análogos de CBs por sus receptores CB₁ y CB₂. Para determinar los coeficientes de regresión lineal entre la K_i real y la K_i calculada se utilizó el análisis estadístico "Partial least-square" (PLS).

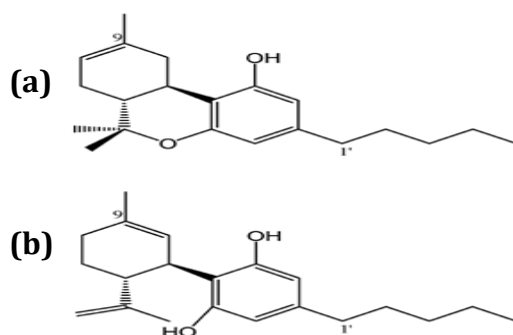
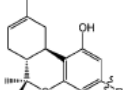
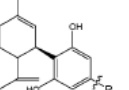






















Figure 3. Estructura de (a): Δ^8 -THC y (b) CBD.

La Tabla 1 muestra todas las estructuras utilizadas en el estudio con sus respectivas K_i experimentales para los receptores CB_1 y CB_2 . Dentro de los análogos sintetizados, **12** fue designado como modelo debido a que hay suficiente información que apoya la conformación propuesta de **12** y a que presenta la mayor afinidad por el receptor CB_1 ($K_i = 0.32$ nM) y la segunda mayor para el receptor CB_2 ($K_i = 0.52$ nM). La alta afinidad de **12** puede atribuirse a dos razones: (a) el aumento de hidrofobicidad en la cadena lateral debido a la sustitución benzílica, que podría favorecer la interacción con los correspondientes restos hidrofóbicos en el receptor y (b) la cadena lateral está conformacionalmente más definida que en el Δ^8 -THC.¹⁵

Compound No.		K_i for CB_1 (nM)	K_i for CB_2 (nM)	Compound No.		K_i for CB_1 (nM)	K_i for CB_2 (nM)
1		95.49	71.81	2		638.1	374.4
3		119.0	51.70				
4		57.77	107.80				
5		11.73	9.39	6		753.5	221.6
7		27.90	25.20	8		255.0	105.0
9		8.26	3.86	10		319.0	110.7
11		168.0	103.0				
12		0.32	0.52	13		136.0	50.40
14		0.52	0.22				
15		56.90	257.0				
16		1.80	3.60				
17		32.30	19.70				
18		0.45	1.92				
19		47.60	39.30	20		1265.0	230.0

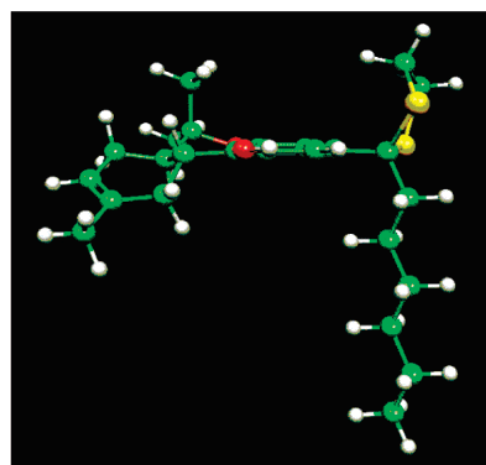
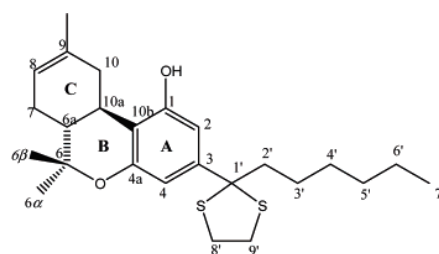


Figura 4. Estructura molecular del compuesto **12** (en la parte superior) y su conformación de menor energía.

La conformación de menor energía de **12** y otros derivados del Δ^8 -THC fue obtenida mediante una combinación de espectroscopia NMR y técnicas de modelado molecular.

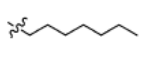
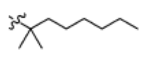
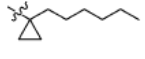
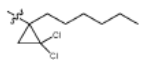
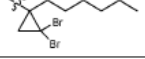
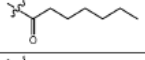
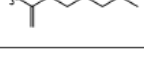
21		22.00	-			
22		0.83	0.49			
23		0.44	0.86	24	58.68	99.23
25		1.27	0.29	26	666.4	32.87
27		0.71	1.03	28	189.0	63.30
29		21.70	83.70			
30		2.17	3.30			

Tabla 1. Estructuras moleculares y sus valores de K_i de los compuestos utilizados para construir los modelos de CoMFA y CoMSIA

Utilizando la conformación de menor energía de **12** como modelo, se procedió a la superposición de los diferentes compuestos del estudio. Los carbonos C1, C2, C3, C4, C4a, C6a, C7, C10, C10a y C10b y los átomos de oxígeno de **12** (es decir, el grupo farmacóforo, ya que será común a todos estos compuestos) fueron los seleccionados para el proceso de superposición estructural.

En la construcción de los modelos 3D-QSAR CoMFA y CoMSIA para la determinación de la afinidad para los receptores CB_1 y CB_2 , 30 análogos de CB para el receptor CB_1 y 29 para el CB_2 fueron sometidos al análisis PLS. Los resultados revelaron una muy buena correlación entre los valores de K_i predichos por el CoMFA y los experimentales. La correlación entre los valores predichos de K_i por el CoMSIA y los experimentales sería algo menor, no obstante, seguiría siendo buena.¹⁵

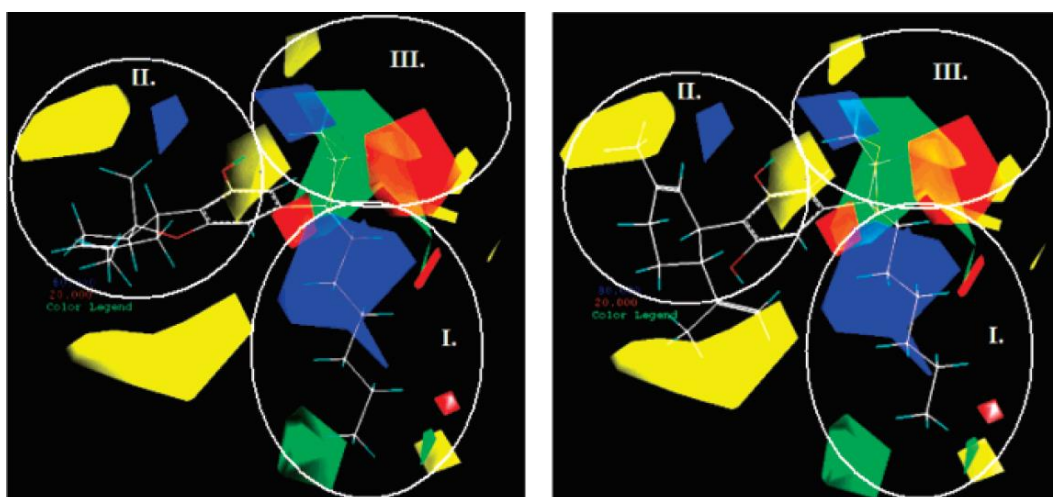
Los “mapas de contornos” se utilizan para crear matrices “negativas” en un sitio activo no conocido, de forma que se puedan introducir variaciones en los ligandos para favorecer la interacción en este sitio activo “imaginario”. La Figura 5a, b muestra los “mapas de contornos” con las contribuciones estéricas y electrostáticas del modelo CoMFA para los receptores CB_1 y CB_2 respectivamente. La Figura 6a, b muestra lo mismo pero, en este caso, para el modelo CoMSIA. Las áreas estéricamente favorables aparecen en amarillo mientras que las estéricamente desfavorables se muestran en

Los resultados obtenidos muestran que la cadena lateral en C3 se coloca perpendicular al plano del anillo A.

La conformación, orientación y localización de la molécula en la membrana juegan un papel fundamental en la interacción con el receptor. Según diversos estudios, el THC se orientaría con el eje longitudinal de su sistema tricíclico perpendicular a la bicapa lipídica mientras que la cadena alifática lateral se colocaría en paralelo.¹⁵

verde. Las áreas donde la carga positiva aumenta la actividad biológica aparecen en azul, mientras que aquellas áreas en las que la carga positiva disminuye la actividad se muestran en rojo. Por tanto, la actividad biológica aumenta al aumentar el volumen en las zonas verdes y disminuirlo en las zonas amarillas, y al introducir más carga positiva en las zonas azules y más carga negativa en las zonas rojas. Las regiones I, II y III muestran los “mapas de contornos” alrededor de la cadena lateral, del sistema tricíclico y de la cara α del carbono C1' del ligando, respectivamente. ¹⁵

(a)



(b)

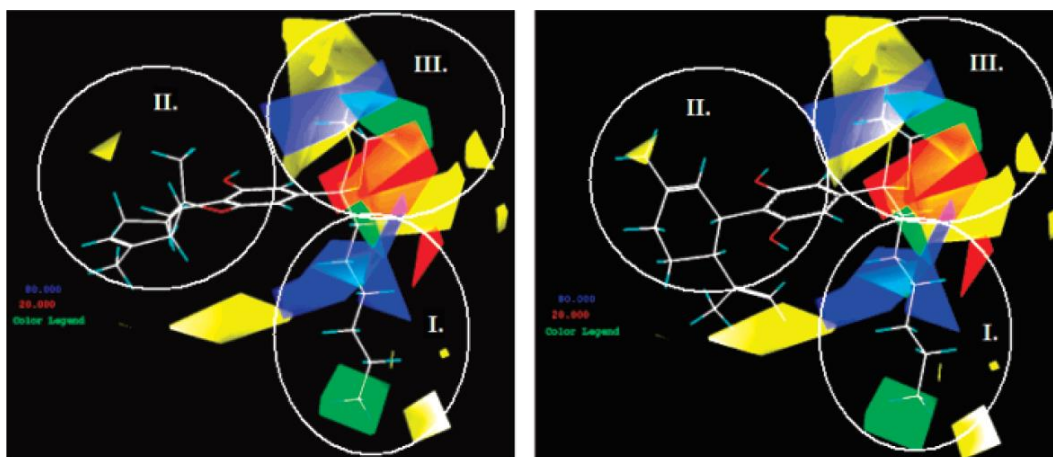
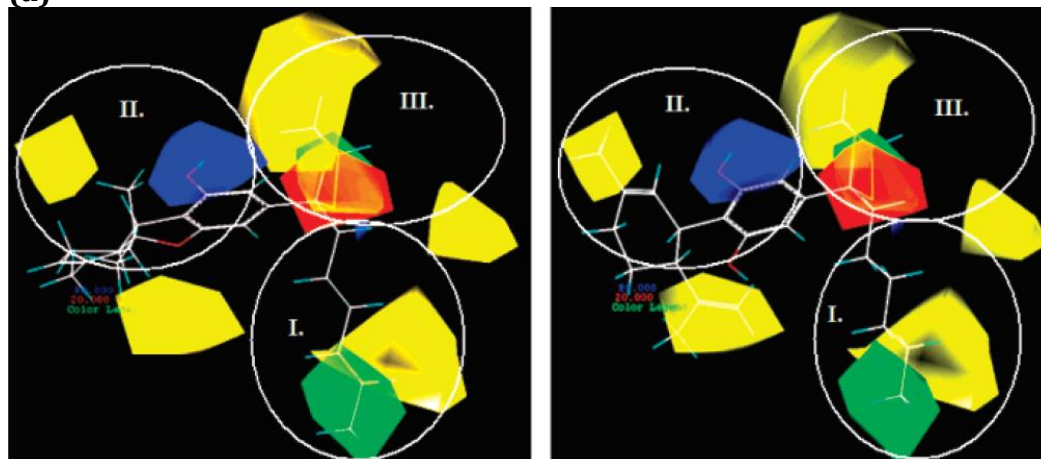


Figura 5. Mapa de contornos del CoMFA del compuesto **12** (a la izquierda) y su respectivo análogo del CBD (a la derecha) para el modelo del receptor CB₁ (arriba) y el modelo del receptor CB₂ (abajo).

En una revisión minuciosa de la literatura existente se identificaron los fragmentos moleculares esenciales para la actividad cannabimimética. La primera de ellas sería la cadena alifática lateral en C3; cumple un papel importante en la interacción hidrofóbica con el sitio de acción. El aumento de la cadena en uno o dos carbonos favorece la unión, mientras que una extensión mayor de la cadena es perjudicial. Disminuir la longitud del

n-pentil en dos carbonos reduce la actividad en un 75%. Análogos con sustituyentes como por ejemplo CH₃, C₂H₅, Cl o I en la posición *orto* respecto al hidroxil fenólico mantienen la actividad biológica. Sin embargo, las sustituciones en *para* origina análogos inactivos. Esto se debe a que las sustituciones en *para* impiden que la cadena lateral se oriente en dirección sur respecto al hidróxido fenólico, produciendo una

(a)



(b)

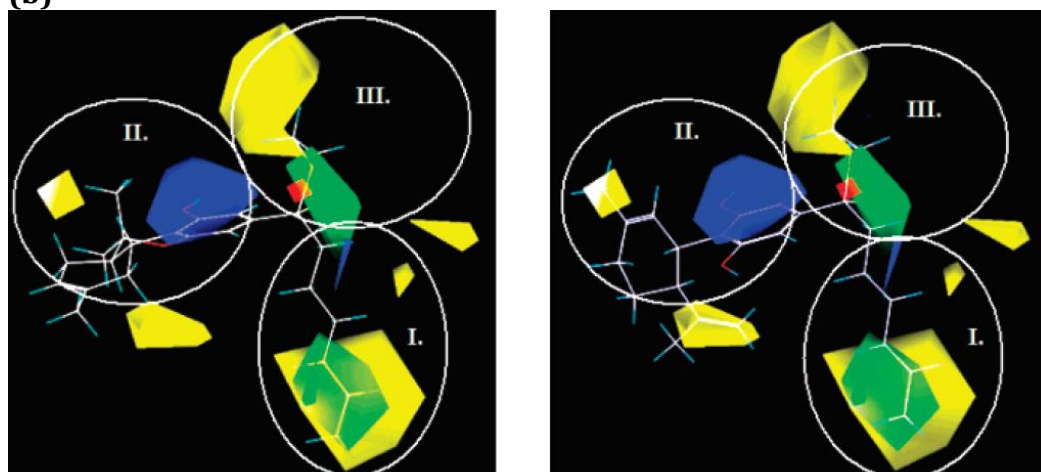


Figura 6. Mapa de contornos del CoMSIA del compuesto **12** (a la izquierda) y su respectivo análogo del CBD (a la derecha) para el modelo del receptor CB₁ (arriba) y el modelo del receptor CB₂ (abajo).

disminución de la actividad. Por tanto, la orientación de la cadena lateral alquílica juega un papel fundamental en la actividad biológica. Se puede alcanzar un alto grado de restricción conformacional de la cadena alquílica mediante la inserción de un doble enlace o introduciendo un nuevo anillo fusionado con el anillo aromático A, dando lugar a variaciones en la respuesta biológica. Diferentes estudios sugieren que la afinidad por los receptores CB disminuye significativamente cuando la cadena lateral es fijada en posición lateral, especialmente si se fusiona al anillo A.^{15,16,17,18}

Cadena lateral alquílica- Región molecular I.

El contorno verde a lo largo de la parte izquierda del final de la cadena alquílica (Figura 5a,b y 6a,b) muestra que los sustituyentes voluminosos aumentan la afinidad por los receptores CB₁ y CB₂ tanto en CoMFA como en CoMSIA. Sin embargo, el contorno amarillo en la parte derecha indica contribución desfavorable de los sustituyentes voluminosos en ese área. La interacción óptima tiene lugar con un grupo lipofílico en la posición C1'. El receptor CB₁ parece no sensible a los grupos isostéricos en esta posición, mientras que el receptor CB₂ parece mostrar una preferencia por el dioxolano frente al ditiolano o análogos ciclopentiles más hidrófobos. ¹⁵

Anillo ABC- Región molecular II.

El contorno amarillo en la cara α del anillo C en los análogos del Δ^8 -THC (Figura 5a,b y 6a,b, en la izquierda) muestra un área en el que se espera que los sustituyentes voluminosos dificulten la unión. No obstante, en el caso de los análogos de CBD, este área se corresponde con el metilo en C9 (Figura 5a,b y 6a,b, en la derecha). En los análogos del Δ^8 -THC va a haber un área estéricamente desfavorable entre la región molecular I y II. Sin embargo, en los análogos de CBD, debido a la diferente orientación estructural de su biciclo, esta área se corresponde con los grupos metil y propenil. Si se comparan los valores de afinidad de los análogos del Δ^8 -THC y sus respectivos análogos de CBD, estos últimos son generalmente menores. Esto podría deberse a los diferentes requerimientos topográficos entre análogos del Δ^8 -THC y CBD respecto al sistema anillos cíclicos. Además, el receptor CB₁ es más sensible a esta diferente orientación estructural que el receptor CB₂. ¹⁵

Posición α del C1' - Región molecular III.

El mapa de contornos muestra que la afinidad y la potencia farmacológica aumenta al introducir grupos voluminosos (área verde) y cargados negativamente (área roja) en la posición α del C1' (Figura 5a,b y 6a,b). Se espera que la presencia de grupos como I-, C₆H₅OH, C₆H₅CF₃, C₆H₅CCl₃, C₆H₅Cl₃, C₆H₅CNH₂ y C₆H₅I en esta región aumente la afinidad por los receptores CB₁ y CB₂. La zona estéricamente desfavorable (área amarilla) se encuentra en las cercanías del anillo A, como se puede observar con los compuestos **15** y **16**.

Estudiando de forma conjunta la región I y III se vio que la posición α del C1' y la cadena lateral alquílica podrían interactuar, respectivamente, con átomos electropositivos y electronegativos de los receptores CB₁ y CB₂.^{15,17}

CONCLUSIONES

A nivel ocular hay presencia tanto de receptores de cannabinoides (principalmente receptores CB₁, pero también CB₂) como de enzimas implicadas en la síntesis y degradación de dichos compuestos. Los cannabinoides han demostrado ser capaces de reducir la presión intraocular eficazmente, lo cual es debido, sobre todo, a su unión a los receptores CB₁. Además, los cannabinoides poseen actividad neuroprotectora al inhibir la liberación de glutamato y gracias a sus propiedades antiinflamatorias y vasodilatadoras. Sus efectos adversos son reducidos pero provocan tolerancia y muchos de ellos son psicoactivos, lo cual supone un obstáculo para su uso terapéutico.

Basándose en los mapas de contornos de los modelos CoMFA y CoMSIA, es evidente que el factor estérico es más determinante en la afinidad por los receptores CB₁ y CB₂ que el factor electrostático. La orientación de la cadena lateral alquílica en C3 juega un papel crucial en la actividad biológica. Debido a las diferentes propiedades estructurales de los derivados del Δ^8 -THC y del CBD en la región de los anillos, sus requisitos farmacológicos respecto a sus receptores son diferentes. Los derivados del Δ^8 -THC presentan mayor afinidad por sus receptores que sus respectivos análogos del CBD. Se espera que la carga parcial positiva en la región C1'-C3' de la cadena alquílica lateral y la carga parcial negativa en la cara α del C1' favorezca la interacción con los receptores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Flammer, J., Mozaffarieh, M: What Is The Present Pathogenetic Concept of Glaucomatous Optic Neuropathy?. Survey of ophthalmology, Vol. 22, No. 6, 2007.
2. Hernandez MR, Agapova OA, Yang P: Differential gene expression in astrocytes from human normal and glaucomatous optic nerve head analysed by cDNA microarray. Glia 38: 45-64, 2002.
3. Quigley HA, Green WR: The histology of human glaucoma cupping and optic damage. Ophthalmology 86: 1803-30, 1979.

4. Kaiser HJ, Flammer J, Graf T: Systemic blood pressure in glaucoma patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 231: 677-80, 1993.
5. Guo L, Moss SE, Alexander SA: Retinal ganglion cell apoptosis in glaucoma is related to intraocular pressure and IOP-induced effects on extracellular matrix. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46: 175-82, 2005.
6. Shevyrin V. A., Morzherin Y. Y.: Cannabinoids: structures, effects and classification. *Russian Chemical Bulletin, International edition*. Vol. 64, No. 6, pp. 1249 – 1266, June, 2015.
7. Mereu M, Tronci T, Chun LE, Thomas AE, Green JL: *Addict. Biol.* 20, No 91, 2015.
8. Pertwee RG: *Br. J. Pharmacol.* 147, 2006.
9. Pinar-Sueiro S, Rodríguez-Puertas R, Vecino E; Cannabinoids applications in glaucoma. *Arch Soc. Esp. Oftalmología*, 86:16- 23, 2011.
10. Panahi Y, Manayi A, Nikan M, Vazirian M; The arguments for and against cannabimimetics application in Glaucoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86: 620-627, 2017.
11. Green K; Marijuana smoking vs cannabinoids for glaucoma therapy. *Arch Ophthalmol.* 1998; 116: 1433-7.
12. Pate DW, Urtti A, Fich M, Jarho P.; Effects of topical anandamide on intraocular pressure in normotensive rabbits. *Life Sci.* 1996;58: 1849-60.
13. Ramírez BJ, Blázquez C, Del Pulgar TG, Guzmán M; Prevention of Alzheimer's disease pathology by cannabinoids. *J. Neurosci.* 2005.
14. Veldhuis WB, van der Stelt M, Wadman MW, Maccarrone M, Fezza F; Neuroprotection by endogenous cannabinoids. *J Neurosci.* 2003.
15. Durdagi S, Kapou A, Andreous T, Nikas SP; The applications of 3D-QSAR studies for novel cannabinoids ligands substituted at the C1' on structural Requirements for binding to cannabinoids receptors CB1 and CB2. *J. Med. Chem.* 2875-2885. 2007.
16. Reggio PH. Pharmacophores for ligand recognition and activation/inactivation of the cannabinoids receptors. *Nature*; 1607-1621. 2003.
17. Makriyannis A, Rapaka RS. The molecular basis of cannabinoids activity. *Life Sci*; 2173-81. 2006.
18. Thakus GA, Duclos RI; Natural cannabinoids: templates for drug discovery. *Life Sci*, 78: 454-466. 2005.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.