



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

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

Autores: Gonzalo García Robles

María Fernández-Billón Castrillo

Tutora: Carmen Luisa del Campo Pérez

Convocatoria: Febrero 2017

RESUMEN

El glaucoma es una de las principales causas de ceguera a nivel mundial. La observación de que los fumadores de *Cannabis sativa* (Δ^9 -THC) desarrollaban una reducción de la presión intraocular (PIO), sugirió el aislamiento de cannabinoides como posibilidad terapéutica en el tratamiento del glaucoma.

El sistema cannabinoide endógeno (SEC), permitió conocer los ligandos endógenos (CB), y los receptores (CB₁ y CB₂) a los que activan para mediar sus acciones. Así, surgió la necesidad de obtener ligandos cannabinomiméticos sintéticos, en concreto con mayor afinidad CB₁, ya que hay mayor expresión de estos receptores a nivel de la retina.

El objetivo es conseguir dilucidar la estructura de agonistas CB₁, con elevada biodisponibilidad, gran afinidad y selectividad por los CB₁; así como crear una síntesis adecuada para su obtención. Para ello, se han utilizado estudios de relación estructura-actividad tridimensional cuantitativa (Q-SAR), usando análisis de campo molecular (CoMFA) y el análisis comparativo de índices de similitud molecular (CoMSIA) junto con espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR).

ABSTRACT

Glaucoma is one of the leading causes of blindness worldwide. The observation that smokers of *Cannabis sativa* (Δ^9 -THC) developed a reduction in intraocular pressure (IOP), suggested the isolation of cannabinoids as a therapeutic possibility in the treatment of glaucoma.

The endogenous cannabinoid system (SEC), allowed us to know the endogenous ligands (CB), and the receptors (CB₁ and CB₂) that activate to mediate their actions. Thus, the need arose to obtain synthetic cannabinomimetic ligands, in particular with greater CB₁ affinity, since there is a greater expression of these receptors at the level of the retina.

The objective is to obtain CB₁ agonists, with high bioavailability, high affinity and selectivity for CB₁ and, then, create a useful pathway to get them synthesized.

For this, quantitative three-dimensional structure-activity relationship studies (Q-SAR)

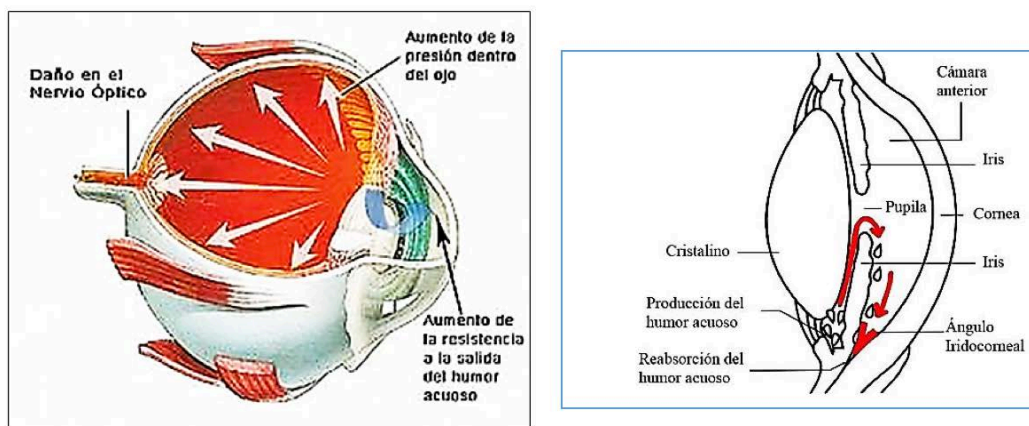
using molecular field analysis (CoMFA) and comparative analysis of molecular similarity index (CoMSIA) have been used together with nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy.

INTRODUCCIÓN

Glaucoma

El glaucoma es una neuropatía óptica progresiva, que induce pérdida de visión progresiva e irreversible por daño en el nervio óptico y sus estructuras asociadas. La prevalencia de esta enfermedad es muy elevada¹, 66,8 millones de personas en el mundo padecen glaucoma, siendo la segunda causa de ceguera a nivel mundial.²

El glaucoma implica disminución de tejido neural, activación de las células gliales (astrocitos), remodelación de tejidos (aumento de metaloproteinasas de matriz extracelular [MMPs] sobre todo de la MMP-9), linfocitos, desórdenes en el citoesqueleto) y cambios en el riego sanguíneo.



Esta neuropatía está asociada a varios factores de riesgo como son la presión intraocular (PIO) elevada, la disminución del flujo sanguíneo ocular y los vasoespasmos oculares. La PIO demasiado elevada puede provocar una degeneración progresiva del nervio óptico, que se traduce en una alteración característica de la pupila y en un deterioro del campo visual, sobre todo a nivel periférico.



El glaucoma se caracteriza por ser una enfermedad multifactorial² que implica daños celulares al combinarse el aumento de la PIO con otros factores de riesgo como son: la presión sanguínea elevada, otras patologías oculares, diabetes tipo II, la edad, el sexo y la herencia genética.

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 (malla trabecular) y de la vía uveoescleral.⁴ El HA, además del mantenimiento del tono ocular, tiene la responsabilidad del mantenimiento metabólico en el cristalino y la córnea.

La PIO, la presión que ejercen los líquidos intraoculares contra la retina, es necesaria para que este órgano se mantenga distendido y ejerza su correcta función. Tiene como primer factor determinante el **humor acuoso**, líquido situado en la parte anterior del ojo, producido por las células del endotelio del cuerpo ciliar. El HA sirve para nutrir y oxigenar el globo ocular, de modo que este pasa desde la cámara posterior a través de la pupila hacia la cámara anterior para irrigar la córnea y el cristalino.

Las vías de drenaje hacia el sistema venoso son: la vía trabecular (sistema convencional), donde el HA sale a través de la malla trabecular; y la vía uveoescleral (sistema no convencional), que elimina entre 5-15% del HA, saliendo este por la cara anterior del cuerpo ciliar y los músculos ciliares, alcanzando el espacio supracoroideo y, finalmente, abandonando el ojo a través de los canales esclerales.

Así pues, el adecuado equilibrio entre la producción del HA por el cuerpo ciliar y la reabsorción por las vías trabecular o uveoescleral es el principal objetivo para asegurar una presión estable.³

Fisiopatología glaucoma

La patogénesis del glaucoma es controvertida, pero hay dos conceptos que parecen ser fundamentales: **DAÑO EN LOS AXONES Y ACTIVACIÓN DE LOS ASTROCITOS**.

Las células más susceptibles al daño glaucomatoso son las **células ganglionares de la retina** (RCG) cuyos axones, que constituyen la capa de fibras nerviosa (RNFL), emergen formando el nervio óptico.⁵

Un factor determinante del daño, como es la reducción de flujo sanguíneo, no es sólo un componente secundario, si no que puede ser primario en la generación del glaucoma (por disminución del tejido neural), de modo que la mayor alteración del axón es consecuencia de una perfusión inestable y, por lo tanto, de una fluctuación de la presión sanguínea.

El estrés mecánico (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, THF). Los astrocitos son activados también por endotelinas, que pueden reducir la circulación sanguínea y el transporte a través del axón, que se liberan como consecuencia del estrés celular. Esto puede aumentar la liberación de diferentes mediadores citotóxicos (radicales libres, glutamato, óxido nítrico (NO)...) que producen daño celular y comprometen a diferentes cargas enzimáticas como las MMPs.⁵

Diversos estudios consideran que la muerte de las células ganglionares de la retina se produce de forma **bifásica**.⁶ La primera fase, influenciada por el principal factor de riesgo, la hipertensión ocular, que induce la alteración del correcto trofismo del nervio óptico y sus células (degeneración primaria). De modo que, una vez alterada la fisiología ocular, se estimula una cadena de eventos que corresponden a la segunda fase del daño de las células ganglionares. Esta segunda fase es debida a la liberación de los agentes citotóxicos generados en la muerte celular inicial (degeneración secundaria), donde cabe destacar la excitotoxicidad mediada por el glutamato, la producción de radicales libres, así como la neurotoxicidad del NO.⁶

Se debe recordar que, aunque el glaucoma está frecuentemente asociado a un incremento de la PIO, la condición de daño del nervio óptico puede ocurrir a cualquier nivel de presión intraocular en individuos susceptibles.

El estado de **excitotoxicidad** es uno de los principales mecanismos que explica la muerte de las células de la retina. La excitotoxicidad por glutamato puede deberse al estado isquémico por la perfusión comprometida,⁶ y/o por la liberación del glutámico intracelular de las células muertas ganglionares.⁷

El glutámico extracelular induce una hiperexcitabilidad de los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA), aumentando el Ca^{2+} intracelular, activándose la cascada de apoptosis mediante caspasas.⁵ Durante este proceso aumenta la liberación de NO y de radicales libres nitrogenados contribuyendo a la peroxidación lipídica y al aumento del estrés oxidativo.⁶

Otro de los sistemas que tiene un papel importante en las enfermedades neurodegenerativas, como el glaucoma, son las **células Müller** y la **microglia**, que responden ante el daño neuronal. Las **células Müller** reaccionan por un proceso denominado “gliosis”, siendo este el inicio de los mecanismos de señalización que son protectores primarios para la retina.⁸

La **microglia** también se activa cuando hay un daño en el SNC. En términos de cambios funcionales, la microglía activada es capaz de liberar muchas sustancias mediadoras, factores de crecimiento (EGFR) y compuestos citotóxicos, tales como especies reactivas de oxígeno (ROS), NO y citocinas inflamatorias como IL-1 (interleucina), IFN- γ (interferón) y TNF- α (factor de necrosis tumoral).

La activación glial puede resultar beneficiosa, en el sentido de que puede promover la reparación de tejidos, la eliminación de restos celulares o la destrucción de patógenos. Sin embargo, una activación excesiva puede ser extremadamente nociva e inducir y/o exacerbar la neurodegeneración, debido a los factores neurotóxicos y proinflamatorios, que activan cascadas de apoptosis en las RGC.⁷

El factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) se ve alterado en un número elevado de pacientes, siendo este un importante factor para la supervivencia de las células ganglionares de la retina.⁷

Sistema Cannabinoide

La observación de la Marihuana como reductor de la presión intraocular, por Hepler y Frank, fue en 1970.^{1,2} El estudio del Tetrahidrocannabinol (THC), principal componente psicoactivo de la planta *Cannabis sativa*, dio lugar al descubrimiento del Sistema Cannabinoide (SC).

Posteriormente, el hayazgo de ligandos endógenos, que comentaremos más adelante, promovió diversos estudios con el objetivo de elucidar el comportamiento químico y farmacológico de los receptores CB₁ y CB₂ y de los ligandos cannabinomiméticos.⁹

Estos estudios señalaron que, además del CB clásico, otras moléculas estructuralmente diferentes pueden interactuar con las mismas dianas (receptores), induciendo respuestas análogas. Desde entonces la terapia reguladora cannabinoide ha sido extensamente investigada como nuevo potencial terapéutico para el tratamiento del glaucoma, frente a otras terapias ya aprobadas clínicamente.³

Los endocannabinoides (EC) son amidas y ésteres de ácidos grasos de cadena larga. La anandamida (AEA) y el 2-acilglicerol (2-AG) son los EC más estudiados (ver figura 1). El conjunto de estos, los receptores a los que se unen y las proteínas que sintetizan, transportan e hidrolizan es lo que conocemos como el “Sistema Cannabinoide Endógeno” (SEC).

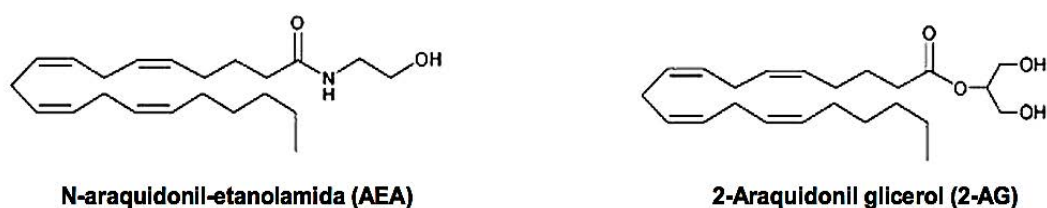


Figura 1. Endocannabinoides más conocidos

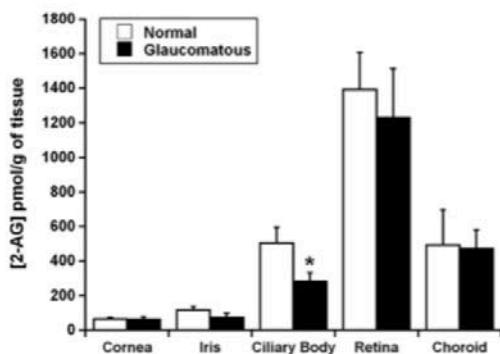


Fig. 1. 2-Arachidonoylglycerol levels (pmol/g tissue) in human eye tissues. Results are expressed as means \pm SEM of 9–11 tissues. *Significantly different between normal and glaucomatous tissues ($P \leq 0.05$).

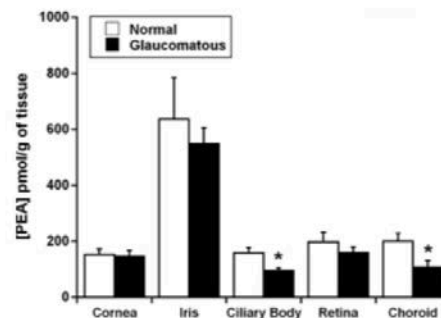


Fig. 2. Palmitoylethanolamide levels (pmol/g tissue) in human eye tissues. Results are expressed as means \pm SEM of 8–11 tissues. *Significantly different between normal and glaucomatous tissues ($P \leq 0.05$).

Figura 2. Diferencias en la concentración de 2-AG y PEA en tejido normal (blanco) y tejido glaucomatoso (negro)

Los primeros estudios que demostraron la relevancia de los cannabinoides, se basaron en la comparación de los niveles de endocannabinoides en los diferentes tejidos oculares. El estudio analítico sobre 2-AG, AEA y palmitoiletanolamina (PEA) tanto en tejidos oculares humanos normales y tejidos glaucomatosos, proporciona mayor evidencia del papel del SEC sobre la fisiología ocular y muestra una disminución en ciertos tejidos del ojo glaucomatoso humano (ver figura 2)¹⁰.

Tanto el 2-AG como la AEA son moléculas endógenas que cumplen las condiciones necesarias de todo neurotransmisor ya que son sintetizados y liberados a partir de las neuronas. Son capaces de unirse y activar receptores de membrana y finalmente son inactivados por recaptación y degradación enzimática en el interior de la célula. La AEA, no obstante, no se almacena en vesículas sinápticas, si no que se produce en el momento, por la hidrólisis, mediante NAPE-PLD (que es una fosfolipasa), de su precursor N-araquidonil fosfatidiletanolamina (NAPE). La vida media de la AEA es muy corta ya que es recaptada por un transportador de alta afinidad y, una vez dentro de la célula, es degradada por la aminohidrosilasa de ácidos grasos (FAAH) dando lugar a **ácido araquidónico** y etanolamina. En la figura 3 aparece detallado el metabolismo de los dos principales EC.

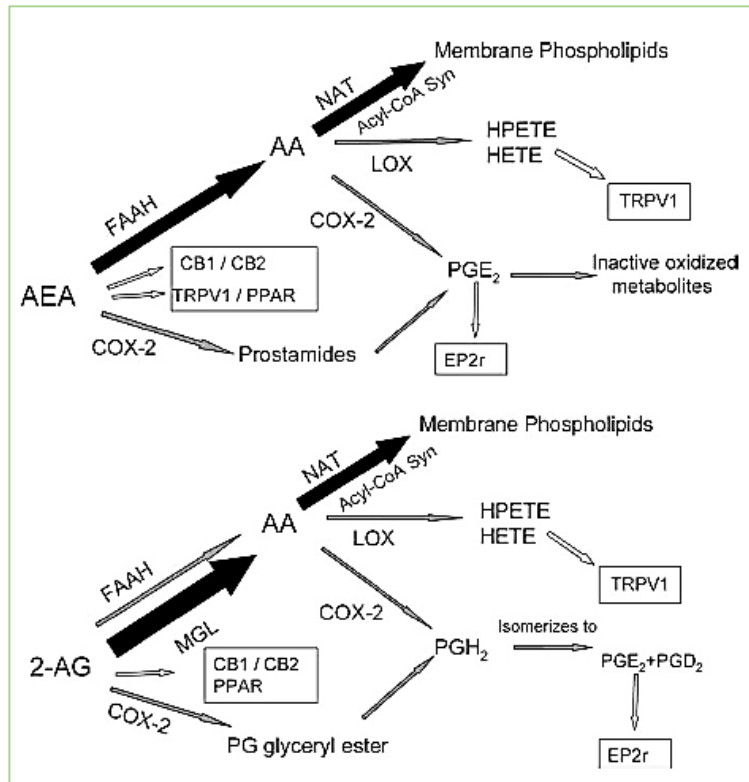


Figura 3. Metabolismo endocannabinoide. Tanto AEA como 2-AG, son degradados por la FAAH, dando lugar a ácido araquidónico (AA) el cual posee dos principales rutas oxidativas enzimáticas: COX y LOX. Cuyas vías dan como productos, prostaglandinas, leucotrienos, HETE y HPETE (eicosanoides). Ambas vías son responsables de inflamación, la cual es importante limitar en un proceso como el glaucoma. De forma que el evitar el metabolismo de los endocannabinoides tiene una doble utilidad, aumentar estos compuestos y evitar la formación de los proinflamatorios.

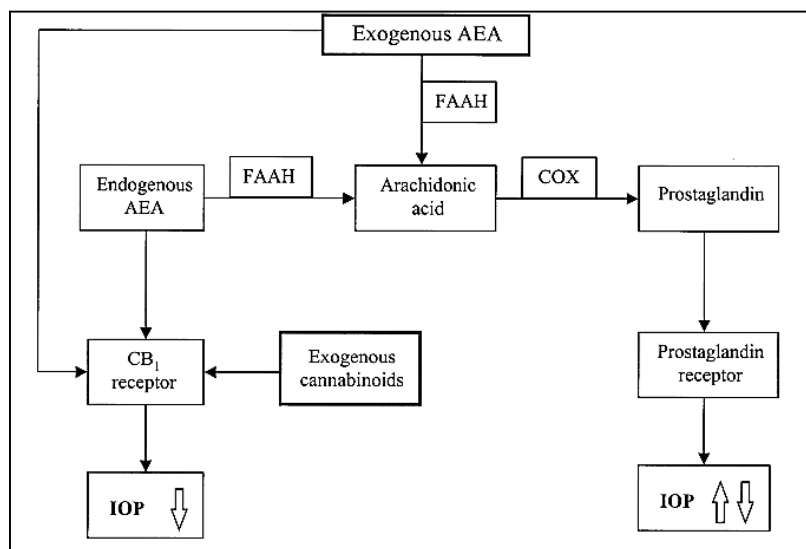


Figura 4. Acción sobre el receptor CB_1 y metabolismo de cannabinoides exógenos y endógenos.

Receptores de cannabinoides

Los EC actúan como neuromoduladores que modifican, estimulando o inhibiendo, la liberación de otros neurotransmisores, tales como GABA (el principal neurotransmisor inhibitor) y glutamato (el principal neurotransmisor excitador).

Se han caracterizado farmacológica y estructuralmente dos receptores de cannabinoides: CB₁ y CB₂. Ambos pertenecientes a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G_{i/o} con siete dominios transmembrana.

Con respecto al receptor CB₁, su expresión es mayoritariamente presináptica, en axones y terminales nerviosos, donde puede mediar la inhibición de la liberación de neurotransmisores. Es el más abundante en el cerebro de los mamíferos. Se localiza principalmente en neuronas del cerebro, médula espinal y sistema nervioso periférico, pero también en órganos y tejidos periféricos. A diferencia del receptor CB₁, el CB₂ se localiza principalmente en células del sistema inmune y hematopoyético¹¹.

Además de estas dos principales dianas de los CB, también los endocannabinoides interactúan con receptores **GPR55** (receptor huérfano acoplado a proteínas G)¹², el receptor vanilloide **TRPV1** y los **PPAR**.

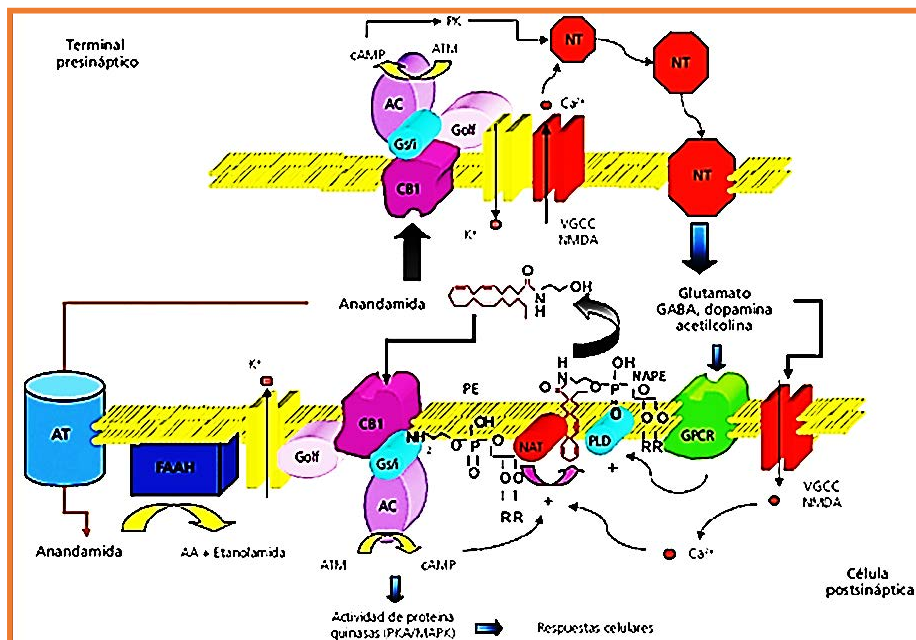


Figura 5. Generación biosintética de endocannabinoides.

Aunque se ha descrito expresión de receptores CB₁ y CB₂ en los tejidos oculares, los receptores de cannabinoides mayoritarios son los CB₁ (ver figura 6), de modo que, para una fisiopatología como es el glaucoma, interesa conocer sus efectos tras la activación/inhibición de los mismos.

Regional distribution of cannabinoid receptors in the eye			
Eye tissue	CB ₁	CB ₂	Species
Retina	X, Y	Y	Human, rat, mouse, monkey, goldfish, chick
Ganglion cell layer, inner plexiform layer, inner nuclear layer, outer plexiform layer, photoreceptors			
Cornea	X		Human
Epithelium, endothelium			
Iris	X, Y		Human, rat
Trabecular meshwork	X		Human
Schlemm's Canal	X		Human
Ciliary Body	X, Y		Human, rat
Non-pigmented epithelium, muscle fibers			
Choroid	Y		Rat

X, expression of cannabinoid receptor protein; Y, expression of cannabinoid receptor mRNA.

Figura 6. Expresión de receptores CB en diferentes tejidos oculares.

Efectos oftalmológicos de los cannabinoides

Presión intraocular

Distintos compuestos de los cannabinoides han demostrado disminuir la PIO. Se ha identificado un marcaje intenso de receptores de cannabinoides tipo CB₁ en localizaciones implicadas en la producción y excreción del HA. A nivel del epitelio no pigmentado del cuerpo ciliar y en los vasos coroideos, está uno de los principales mecanismos posibles mediante el cual los agonistas de cannabinoides podrían provocar un descenso en la PIO, al disminuir la producción de HA.

Este marcaje para receptores CB₁ también es intenso a nivel del músculo ciliar, el cual ejerce un efecto básico para el aumento de la filtración del HA a través de la vía uveoescleral¹³, al mismo tiempo que pueden modificar la disposición de la malla trabecular.

Neuroprotección

Numerosos estudios han demostrado el efecto neuroprotector de los cannabinoides en distintas enfermedades neurodegenerativas del SNC.

El efecto neuroprotector de los cannabinoides tiene lugar mediante la activación de los receptores CB₁ presinápticos, inhibiendo retrógradamente la liberación de glutamato, protegiendo así los axones e induciendo también un aumento de la expresión de BDNF, aumentando así la supervivencia neuronal.

Inhibición de la excitotoxicidad mediada por glutamato

En el glaucoma están aumentados los niveles intravítreos de glutamato¹⁴. En modelos de excitotoxicidad mediada por glutamato, el THC fue capaz de inhibir la formación de NO tras la inyección intravítrea de NMDA. Este efecto, dosis-dependiente, fue parcialmente bloqueado por el antagonista CB₁ puro rimonabant, lo cual sitúa este mecanismo neuroprotector fundamentalmente a nivel de los receptores tipo CB₁¹⁵. Estos receptores podrían actuar como neuroprotectores al inhibir los canales de calcio voltaje-dependientes.

Efectos vasculares beneficiosos sobre el nervio óptico

Estudios clínicos consideran la reducción del flujo vascular como uno de los mecanismos fundamentales que median la fisiopatogenia del glaucoma. Los agonistas de cannabinoides producen un efecto relajante vascular a través de la activación de canales de K⁺, por la vía del GMPc y del NO¹⁶. Producen un efecto vasodilatador dosis-dependiente a través de factores relajantes derivados del endotelio, como el NO, por estimulación de receptores CB₁ y de vanilloides¹⁶.

Relación estructura química-actividad farmacológica de derivados cannabinoides

Tras conocer los efectos a nivel ocular del receptor CB₁, podemos concluir que los cannabinoides son relevantes en la fisiología ocular, mediando en el mantenimiento de la PIO, en la fisiología de la fotorrecepción y en la neurotransmisión en la retina, así como en la **neuroprotección**.

Tras la revisión bibliográfica de diversos estudios, concluimos que, como principal objetivo para el tratamiento del glaucoma, habría que obtener agonistas CB₁, con elevada biodisponibilidad, gran afinidad y selectividad por los CB₁, que sean a la vez estables y sin efectos adversos.

El THC, principal cannabinoide natural, ya fue estudiado y descartado como posible fármaco debido a sus múltiples efectos adversos y a su falta de selectividad.

En cuanto a los endocannabinoides, AEA tiene una gran afinidad por el receptor CB₁ y se comporta como agonista parcial o total de este receptor dependiendo del tejido y de la respuesta biológica que está implicada. Sin embargo, en cuanto al receptor CB₂, se trata de un agonista parcial muy débil, llegando incluso a ser antagonista en algunos casos¹⁷. Debido a la rápida metabolización y a su pobre selectividad, los ligandos endógenos no se plantean como una posibilidad terapéutica real.

Debido a estos inconvenientes, surge la necesidad de sintetizar nuevas moléculas que permitan la aplicación de la terapia cannabinoide. Se han realizado estudios de relación estructura-actividad (SAR) en CB clásicos (THC), reconociéndose dos grupos farmacóforos dentro del prototipo CB: Un hidroxilo fenólico (PH) y una cadena lipófila (SC) (ver figura 7).

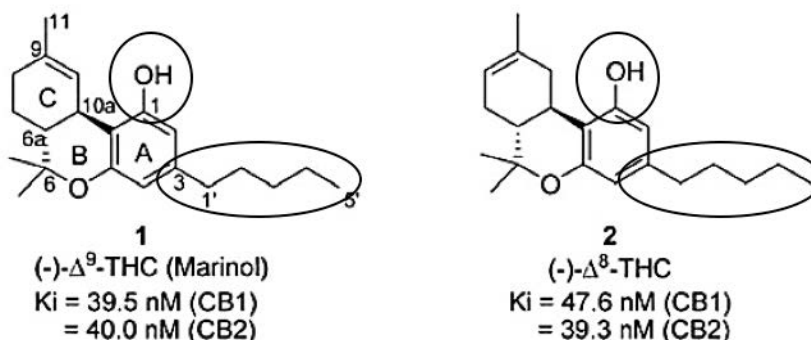


Figura 7. Estructuras de cannabinoides clásicos.

Tras varios estudios se demostró que la cadena alifática (SC) en C₃ juega un papel crucial en la determinación de la actividad cannabinomimética y selectividad sobre los receptores CB, así como la potencia farmacológica. La modificación estructural de la cadena alifática (C¹-1¹) produce ligandos de elevada afinidad con efectos ya sean antagonistas, agonistas parciales o agonistas completos.

Un conjunto de 30 nuevos análogos de Δ⁸-tetrahidrocannabinol y cannabidiol fueron sometidos a estudios de relación estructura-actividad tridimensional cuantitativa (Q-SAR) usando análisis de campo molecular (CoMFA) y el análisis comparativo de índices de similitud molecular (CoMSIA) junto con espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR). El CoMFA calcula las propiedades estéricas y electrostáticas en el espacio que rodea cada una de las moléculas alineadas correlacionándose con la actividad biológica. El CoMSIA calcula índices de similitud sobre las moléculas en estudio, con la similitud expresada en términos de diferentes propiedades fisicoquímicas, tal como ocupación estérica, cargas de átomos, propiedades hidrofóbicas, enlaces de hidrógeno. Se determinó la conformación bioactiva putativa de los ligandos cannabinoides más potentes en el conjunto de análogos estudiados.¹¹

Las estructuras con mayor afinidad CB₁ y CB₂ (10, 11, 12 de la figura. 8) fueron sintetizadas y sometidas a un estudio farmacológico *in vitro* donde se encontró que la molécula 10 (ver figura 8) era un potente agonista CB₁. Tiene la afinidad más elevada por el receptor CB₁ con valor de K_i 0.32 nM y la segunda mayor afinidad sobre el receptor CB₂ (K_i 0.52 nM)¹⁸

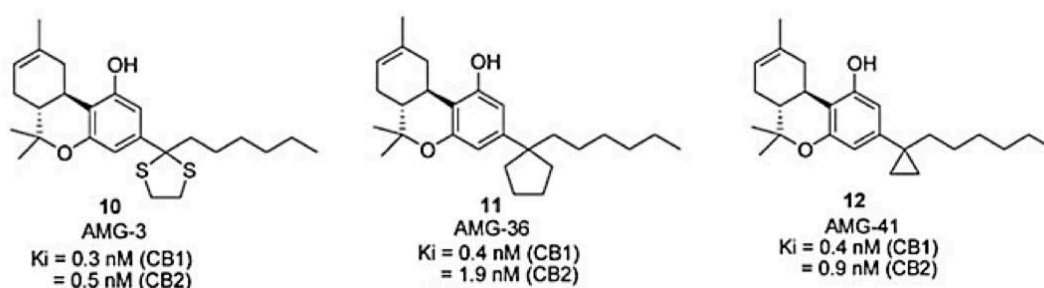


Figura 8. Estructuras con mayor afinidad por CB₁ y CB₂.

Los resultados de estos estudios sugieren la presencia de un subsitio dentro del dominio de unión CB₁ y CB₂ al nivel del carbono lateral bencílico en la serie THC. En un esfuerzo por definir los límites estereoquímicos de este supuesto sitio, se generaron

mapas de volumen (Countor maps) esencial de receptores y mapas de volumen excluidos de receptores utilizando enfoques de modelado molecular, usando como referencia la conformación del análogo ditiolano (**10**)¹⁸, centrándonos en la búsqueda del ligando afín a CB₁.

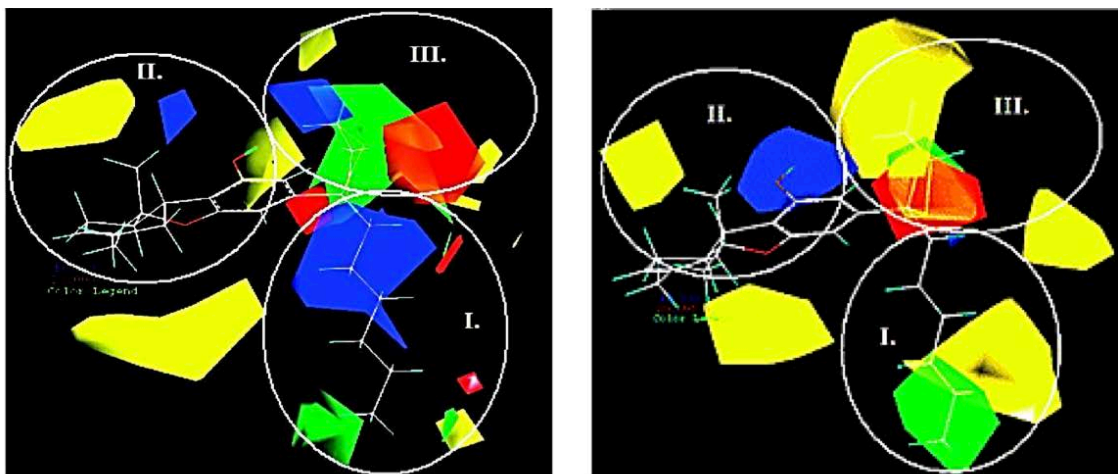


Figura 9. A la izquierda CoMFA y a la derecha CoMSIA mapa de contorno del compuesto modelo 10 para el modelo de CB₁. Las áreas estéricas y electroestáticamente favorables se muestran en verde (contribución del 80%) y las estéricamente desfavorables en amarillo (contribución del 20%). Las áreas potencialmente positivas se muestran en azul (80%) y las áreas potencialmente desfavorables se muestran en rojo (20%) (Regiones I, II y III muestran el mapa de contorno sobre la cadena alquílica, la parte tricíclica y la parte C1' del ligando, respectivamente¹¹

Como se puede observar en la figura 9, los resultados CoMSIA están de acuerdo con los resultados CoMFA, de modo que la coloración verde a la izquierda a lo largo de la cadena alquílica muestra que los grupos voluminosos mejoran la afinidad por los receptores CB₁. Y la coloración amarilla muestra las áreas desfavorables, en el lado derecho de la cadena alquílica, así es como la orientación de la cadena también juega un papel importante en la actividad biológica.

Posteriormente, se intentó simplificar la estructura responsable de la actividad, así como buscar nuevas maneras de interactuar con la diana, de forma que se pudiesen conseguir cannabinoides más selectivos.

Se descubrió que había dos grupos farmacóforos más: un hidroxilo alifático del norte (NAH) y un hidroxilo alifático del sur (SAH)¹¹, no encontrados en ninguna estructura natural.

Así que, gracias a los CB naturales (clásicos) y CB no clásicos, se concluyó en la presencia total de cuatro grupos farmacóforos. También se comprobó que el anillo benzopirano no era esencial para la actividad.

Estos descubrimientos son vitales para la síntesis y estudio de nuevas estructuras y poder hacer un diseño racional de fármacos que nos lleven a conseguir mayor actividad, mayor selectividad y por lo tanto menos efectos secundarios (toxicidad).

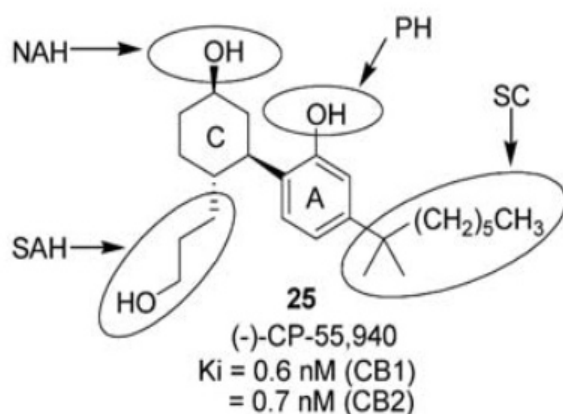


Figura 10. Cannabinoide no clásico. CP-55,940

El hecho de conseguir una serie de análogos estructuralmente compatibles e ideales no es suficiente, posteriormente se tendrán que poner en marcha mecanismos de síntesis que nos permitan crear estas moléculas a gran escala, a nivel industrial.

La síntesis de derivados clásicos está caracterizada y se encuentra protocolizada, más adelante detallamos, como ejemplo, la síntesis del compuesto número 16.¹⁹

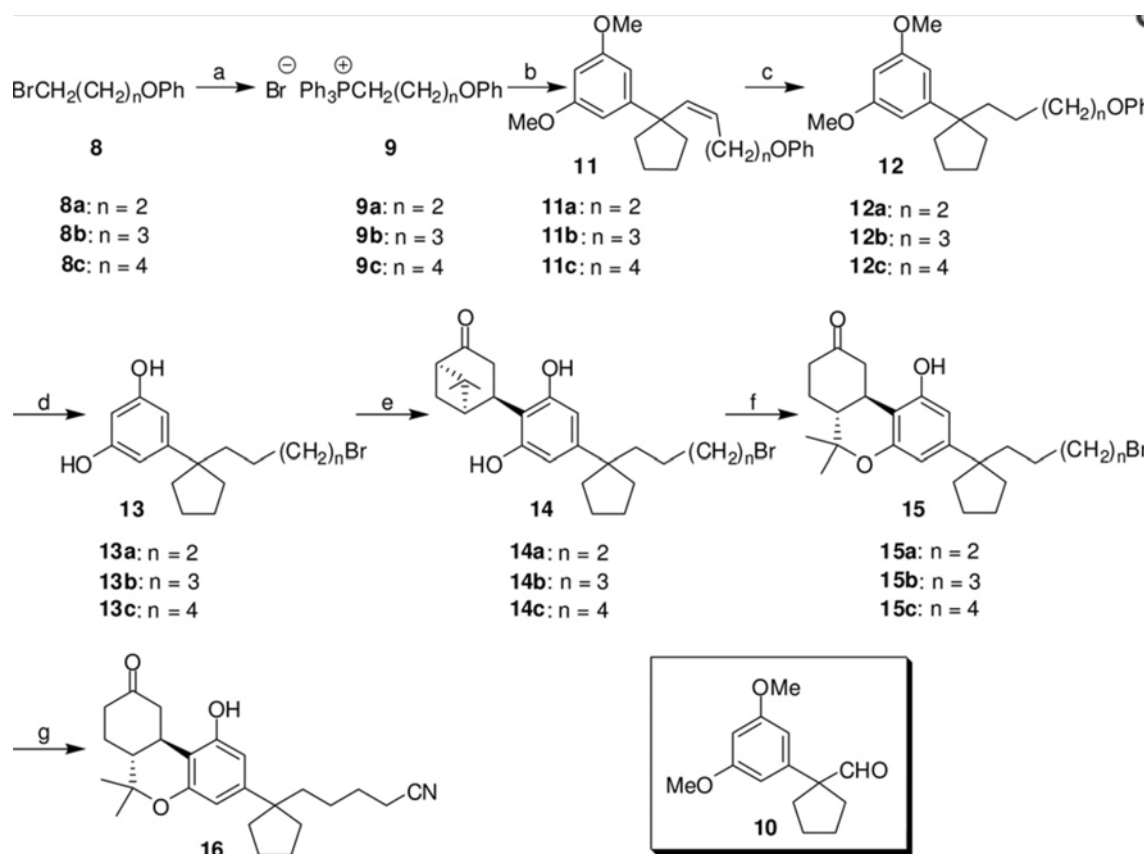


Figura 11. Reactivos y condiciones: (a) Ph_3P , C_6H_6 , reflujo, 2 días, 80–85%; (b) $(\text{Me}_3\text{Si})_2\text{N}^-\text{K}^+$, THF , 0°C , 10 min, después 1-(3,5-dimetoxifenil)cyclopentanocarboxaldehído (10), 20 min, 91–95%; (c) H_2 , Pd/C , AcOEt , una noche a temperatura ambiente, 94–96%; (d) BBr_3 , CH_2Cl_2 , -78°C a temperatura ambiente, 12 horas, 89–93%; (e) 3, $p\text{-TSA}$, CHCl_3 , 0°C hasta temperatura ambiente, 3 días, 50–54 %; (f) TMSOTf , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{NO}_2$ (3:1), 0°C hasta temperatura ambiente, 3 horas, 73–75%; (g) NaCN , DMSO , temperatura ambiente, 20 h, 64%.

En la actualidad están bajo estudio los análogos cannabinoides no clásicos, como el CP-55,490 (figura 10) y su familia, que han sido patentados por el laboratorio Pfizer y, debido a esto, no hay bibliografía disponible sobre su síntesis, pese a que son ya una realidad y están llevándose a cabo con ellos estudios farmacológicos en líneas celulares y animales de experimentación.

Conclusión

El presente trabajo de investigación, descrito anteriormente, es un intento exitoso tanto de llevar a cabo un modelo molecular con estudios basados en RMN 3-D, Q-SAR CoMFA y CoMFIA de los CB_1 y CB_2 de los modelos farmacóforos agonistas; como de conseguir una vía sintética adecuada para obtenerlos físicamente.

Estos estudios han servido para demostrar qué características aumentan la **afinidad** (C'3 cadena alquílica) e, incluso, qué zonas son estéricamente desfavorables. También se ha permitido conocer la **actividad** de estructuras afines a los ligandos naturales. Las nuevas estructuras obtenidas como, por ejemplo, los análogos 10' (figura 8) y CP-55,490 (figura 10) servirán como base para el diseño de nuevos prototipos de cannabinoides sintéticos, con los futuros objetivos de seguir mejorando la actividad.

En la actualidad no existe ningún cannabinoide comercializado con esta indicación terapéutica, ya que quedan muchos retos por superar, incluyendo los problemas asociados a los **efectos adversos** indeseados. Cabe mejorar la **biodisponibilidad**, por la dificultad de obtener una formulación tópica estable y efectiva. Y **su selectividad**.

No obstante, cabe ser positivos, ya que son muchas las moléculas que están siendo patentadas y estudiadas hoy en día, tanto en líneas celulares como en modelos animales, por lo que se espera un gran aumento de cannabinoides sintéticos en el mercado en las próximas décadas.

Bibliografía

1. Järvinen T., Pate D. W., Laine K. (2002). Cannabinoids in the treatment of glaucoma. *Pharmacol. Ther.* 95 203–220.
2. Kokona, D., Georgiou, P.-C., Kounenidakis, M., Kiagiadaki, F., & Thermos, K. (2016) Endogenous and Synthetic Cannabinoids as Therapeutics in Retinal Disease. *Neural Plasticity*, 2016, 8373020.
3. Robert N. Weinreb, Christopher K.S Leung, Jonathan G.Crowston, Felipe A. Madeiros, David S.Freidman, Janey L. Wiggs and Keith R. Martin. (2016) Primary open-angle glaucoma. *Disease Primer*. Article number: 16067.
4. Cairns, E., Toguri, J., Porter, R., et al. (2015). Seeing over the horizon – targeting the endocannabinoid system for the treatment of ocular disease. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 27(3), pp. 253-265. Retrieved 25 Jan. 2017
5. Doozandeh A, Yazdani S. (2016) Neuroprotection in glaucoma. *J Ophthalmic Vis Res* 2016;11:209-20.
6. S. Pinar-Sueiro, R. Rodríguez-Puertas, E. Vecino. (2011) Aplicaciones de los cannabinoides en glaucoma. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2011;86:16-23.
7. Vasudevan SK, Gupta V, Crowston JG. (2011) Neuroprotection in glaucoma. *Indian J Ophthalmol* 2011;59, Suppl S1:102-13.
8. Seitz, R., Ohlmann, A. & Tamm, E.R. (2013) The role of Müller glia and microglia in glaucoma. *Cell Tissue Res.* 2013;353:339–345.
9. Serdar Durdagi, Agnes Kapou, Therapia Kourouli, Thanos Andreou, Spyros P. Nikas, Victoria R. Nahmias, Demetris P. Papahatjis, Manthos G. Papadopoulos and, and Thomas Mavromoustakos*. (2007) The Application of 3D-QSAR Studies for Novel Cannabinoid Ligands Substituted at the C1' Position of the Alkyl Side Chain on the Structural Requirements for Binding to Cannabinoid Receptors CB1 and CB2. *Journal of Medicinal Chemistry.* 50 (12), 2875-2885.
10. Chen J., Matias I., Dinh T., et al. (2005) Finding of endocannabinoids in human eye tissues: implications for glaucoma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 330: 1062– 1067.
11. Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carriere D, Carayon P, Bouaboula M, Shire D, Le Fur G & Casellas P. (1995) Expression of central and

peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem*, 232:54-61.

12. Ryberg E, Larsson N, Sjögren S, Hjorth S, Hermansson NO, Leonova J, Elebring T, Nilsson K, Drmota T, Greasley PJ. (2007) The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol*, 152(7):1092-101.
13. Stamer WD, Golightly SF, Hosohata Y, Ryan EP, Porter AC, Varga E, et al. Cannabinoid CB1 receptor expression, activation and detection of endogenous ligand in trabecular meshwork and ciliary process tissues. *Eur J Pharmacol*. 2001; 431:277-86.
14. Twitchell W, Brown S, Mackie K. Cannabinoids inhibit N- and P/Q-type calcium channel in cultured rat hippocampal neurons. *J Neurophysiol*. 1997;78:43–50.
15. El-Remessy AB, Khalil IE, Matragoon S, Abou-Mohamed G, Tsai N-J, Roon P, et al. Neuroprotective effect of (-) Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in N-Methyl-D-Aspartate-induced retinal neurotoxicity. *Am J Pathol*. 2003;163:1977–2008.
16. Romano MR, Lograno MD. Cannabinoid agonists induce relaxation in the bovine ophthalmic artery for CB1 receptors, nitric oxide and potassium channels. *Br J Pharmacol*. 2006;147:917–25.
17. Gonsiorek W, Lunn C, Fan X, Narula S, Lundell D, Hipkin RW. (2000) Endocannabinoid 2-arachidonyl glycerol is a full agonist through human type 2 cannabinoid receptor: antagonism by anandamide. *Mol Pharmacol*, 57(5):1045–50.
18. Pertwee RG. *Cannabinoids*. Volumen 168. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2005.
19. Nikas, S. P., Alapafuja, S. O., Papanastasiou, I., Paronis, C. A., Shukla, V. G., Papahatjis, D. P., Makriyannis, A. (2010). Novel 1', 1'-Chain Substituted Hexahydrocannabinols: 9 β -Hydroxy-3-(1-hexyl-cyclobut-1-yl)-hexahydrocannabinol (AM2389) a Highly Potent Cannabinoid Receptor 1 (CB1) Agonist. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(19), 6996–7010.