

FORMULE MAGISTRALI A BASE DI CANNABIDILOLO

IN OLIO MCT (MEDIUM CHAIN TRIGLYCERIDES) NELLA TERAPIA VETERINARIA



di **Daniela Fatigati**, farmacista
danielafatigati@gmail.com

L'interessamento da parte del mondo scientifico circa le proprietà terapeutiche della Cannabis e riguardo il suo utilizzo come medicinale è in crescita. L'utilizzo della cannabis non solo è stato introdotto in Italia per il trattamento di alcune patologie umane refrattarie alle terapie convenzionali, ma al contempo trova largo impiego anche nella medicina veterinaria.

La cura degli animali è un settore sempre in maggiore crescita, poiché ormai spesso sono considerati membri integranti delle nostre famiglie. Come gli umani non sono esenti dalla comparsa di patologie diverse e debilitanti che spesso richiedono interventi terapeutici che rischiano di aggravarne il decorso causa la comparsa di effetti avversi che si aggiungono ad un quadro clinico già in precario equilibrio. Molti pazienti risultano essere refrattari al trattamento con farmaci convenzionali e ciò si risolve, nella peggiore delle ipotesi, con la richiesta di eutanasia da parte del proprietario. In questo articolo verranno descritti gli effetti be-

nefici del cannabidiolo (CBD), componente della Cannabis Sativa, nel trattamento di alcune patologie veterinarie gravi.

L'utilizzo della Cannabis a scopo medico è conosciuto fin dall'epoca degli antichi nativi d'America. La comunità scientifica ha portato alla luce la base biologica e farmacologica dei suoi effetti¹, studiane i meccanismi d'azione in modo dettagliato. L'utilizzo in campo medico sia umano che veterinario della Cannabis e dei suoi derivati risulta uno dei settori più attuali e dibattuti degli ultimi anni. I componenti principali che agiscono a livello del sistema nervoso centrale e periferico sono il delta-9-tetraidrocannabinolo (THC) ed il CBD. Il CBD è privo degli effetti psicotropi del THC, è più tollerato e, quando somministrato in concomitanza ad altri farmaci convenzionali, permette la riduzione del dosaggio di questi ultimi.

Verranno descritti i risultati terapeutici del CBD ottenuti su 24 cani, pazienti della clinica veterinaria "Villa Andreina" di Acilia e del centro veterinario "

Minerva Animal Center” di Pomezia, in collaborazione con il Dottor Marco Chierichetti, e presso la clinica “Le Querce” di Lecce in collaborazione con il Dottor Davide De Guz. Sui cani trattati, affetti da diverse gravi patologie quali ansia, artrosi, disturbi gastrointestinali ed epilessia, è stata valutata l'evoluzione clinica relativa al trattamento, considerando l'efficacia, la sicurezza e la stabilità del prodotto.

LA PIANTA DELLA CANNABIS E I SUOI EFFETTI SUL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE

La Cannabis contiene molte sostanze, i cannabinoidi, tra cui il THC e il CBD.

La distribuzione dei cannabinoidi varia nei differenti ceppi di cannabis ed è influenzata dalle differenti varietà genetiche della pianta, dalle condizioni di coltivazione, dai processi di estrazione, oltre che dal tipo di formulazione ricavata e dalla successiva conservazione del prodotto.

Di interesse è il cannabidiolo, componente non psicoattivo e dal profilo di tollerabilità e sicurezza maggiore rispetto al THC. Recenti studi hanno evidenziato come, nonostante la bassa affinità nei confronti dei recettori CB1 e CB2 (Figura 1), il CBD possa interagire con essi ed esplicare notevoli effetti farmacologici anche a concentrazioni submicromolari. In particolare, il CBD presenta un'azione che coinvolge diversi recettori, tra cui i recettori GPR55, TRPV1-3, 5HT1a, PPAR-γ, μ- oppioidi ed inibisce l'azione dell'enzima FAAH, il quale ha ruolo fondamentale nell'idrolisi degli endocannabinoidi. Il CBD è in grado di potenziare alcuni degli effetti benefici del THC, riducendo gli effetti psicoattivi di questo ultimo, rendendo così le formulazioni a base di entrambi i componenti migliori dal punto di vista tossicologico e di sicurezza, poiché ne allarga la finestra terapeutica. Ad oggi sono stati pubblicati numerosi articoli che trattano le attività farmacologiche della cannabis, e più specificatamente del cannabidiolo. La sua somministrazione a scopo terapeutico è particolarmente sviluppata negli Stati Uniti e poiché il sistema endocannabinoide è ampiamente diffuso nell'organismo animale, il cannabidiolo può essere somministrato agli animali in caso di alcune condizioni come ansia, dolore, infiammazioni e tumori che non rispondono alle normali terapie farmacologiche. In Italia risulta un approccio terapeutico ancora raramente applicato, ma molti veterinari riportano risultati importanti.

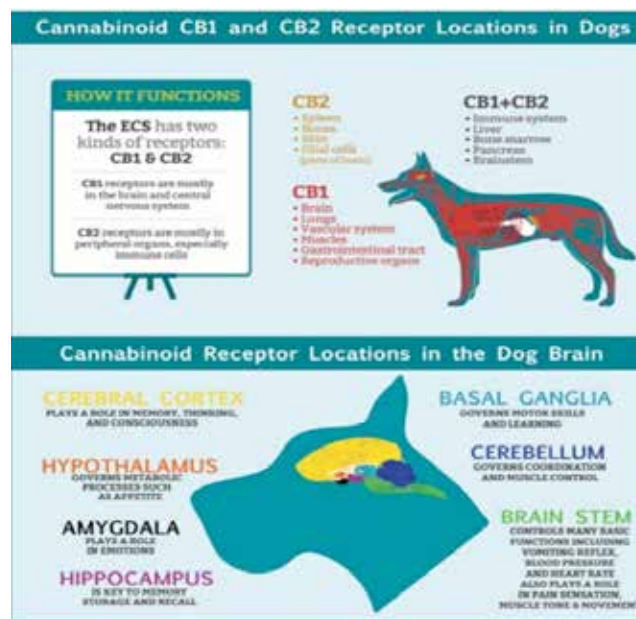


Figura 1: distribuzione dei recettori CB1 e CB2 nel cane

SOLUZIONE ORALE DI CANNABIDILOLO: DI COSA SI TRATTA?

L'allestimento in laboratorio galenico di cannabidiolo viene eseguito mediante solubilizzazione in olio MCT di cristalli di cannabidiolo per uso farmaceutico, idonei e certificati per la formulazione di medicinali. I preparati allestiti in farmacia sono rispettivamente tre:

- 0.5 grammi di CBD in 20 ml di olio MCT**
- 1 grammo di CBD in 20 ml di olio MCT**
- 2 grammi di CBD in 20 ml di olio MCT**

L'olio MCT è una miscela di trigliceridi a catena media, costituiti da sei a dodici atomi di carbonio in miscela. Questo olio permette la solubilizzazione del cannabidiolo e conferisce ad esso elevata biodisponibilità oltre che un rilascio relativamente rapido del cannabinoide, in relazione alla metabolizzazione diretta dei trigliceridi a catena media nel fegato. È stato scelto questo olio, invece che l'olio di cocco, perché a temperatura ambiente, si presenta in forma liquida e non tende a solidificare come l'olio di cocco, oltre il fatto che sembra essere più stabile ai processi di degradazione. Dalle analisi di titolazione dei preparati condotte (vedi Fig 2 e 3), è risultato che l'olio MCT, in qualità di veicolo del CBD, non interferisce chimicamente in alcun modo sulla stabilità del CBD. In generale, la Cannabis e i suoi componenti possono essere prescritti in molte forme farmaceutiche.

La formulazione olio di cannabidiolo è stata scelta perché presenta notevoli vantaggi. Innanzitutto, è di facile somministrazione, poiché può essere incorporata nel cibo e quindi viene accettata con semplicità dell'animale. Utilizzando il dosatore contagocce si ha precisione nel dosaggio, dal momento in cui i pesi dei cani trattati variano da pochi Kg fino a sopra 40 Kg, è fondamentale avere un farmaco che sia facilmente modulabile nelle unità posologiche. Viene utilizzato inizialmente CBD puro in cristalli al 99.5% ad uso alimentare per integratori. Consiste in CBD, certificato per l'uso alimentare. Da settembre 2018, è stato utilizzato CBD certificato GMP (Good Manufacturing Practices), quindi autorizzato per l'allestimento di galenici. La certificazione GMP implica una purezza elevata, una totale corrispondenza alle indicazioni della monografia di Farmacopea ovvero una totale (o quasi) assenza della benché minima traccia di metalli pesanti, contaminanti, aflatossine, pesticidi, radiazioni, ecc. La scelta dell'impiego di uno dei tre dosaggi citati è a discrezione del veterinario, considerato il peso dell'animale a cui somministrare il preparato e all'entità del dolore. La somministrazione deve avvenire dopo circa due ore circa dall'assunzione di cibo, una volta al giorno o due nei casi di dolore più forte. Il contagocce impiegato è tale che 160 gocce corrispondano a 5 ml e quindi ogni goccia corrisponda a 0.03 ml. Tra le indicazioni è importante riportare la conservazione ad una temperatura tra 2 e 8 gradi (in frigo) e lontano dalle fonti di calore e luce, in quanto possibili agenti di ossidazione degraderebbero il composto. Per lo stesso motivo il vetro deve essere scuro.

METODO DI PREPARAZIONE

L'allestimento è molto semplice: come prima cosa si preparano sul piano di lavoro un cilindro graduato da 25 ml, la spatola, un becher da 50 ml e una navicella per pesata. Si pesano rispettivamente i grammi di cannabidiolo prelevato dal frigorifero dove è stato conservato come misura preventiva nei confronti dei processi di degradazione. Successivamente si pone la polvere nel becher e si aggiungono circa 17 ml di olio MCT misurato con il cilindro graduato. Si aggiunge l'apposita ancoretta magnetica e si trasferisce il becher sull'agitatore magnetico, a freddo per evitare di innescare il processo di degradazione. Si copre il becher con una cuffia siliconica o parafilm (una pellicola di poliolefine e cera paraffinica) per proteggere la preparazione.

È possibile anche coprire con un barattolo scuro siliconico rovesciato. Si potrebbe operare anche utilizzando una sorgente di luce rossa, ma il procedimento sarebbe più lungo. Sono necessari circa dieci minuti affinché il cannabidiolo si solubilizzi nell'olio MCT e, avvenuta la solubilizzazione, si trasferisce la miscela nel cilindro. Si aggiunge l'olio MCT fino al volume di 20 ml e si versa in un contenitore di vetro scuro. Si prendono dalla confezione chiusa le pipette sterili da 20 ml, si inseriscono all'interno del flacone e si opera la chiusura. È sufficiente dopo l'apertura sigillare la busta contenete le pipette rimanenti con la pressa sigillante per evitare ulteriori contaminazioni.

CASI CLINICI

I pazienti in terapia con i diversi tipi di formulazione presso la clinica veterinaria Villa Andreina di Acilia e presso la clinica Minerva Animal Center di Pomezia sono rispettivamente divisi in base alle patologie clinicamente diagnosticate: 10 pazienti affetti da problemi ortopedici, 7 pazienti con problemi gastrointestinali, 3 pazienti sia con problemi ortopedici che gastrointestinali ed infine 2 pazienti epilettici. Tra i pazienti ortopedici vi sono cani affetti da dolori da artrosi cronica, spondilartrosi di colonna, artrosi delle articolazioni (anca, gomito, ginocchia). I soggetti appartengono a razze predisposte alla degenerazione della capsula articolare o a displasie. Il cannabidiolo, in questo gruppo, viene associato con condroprotettori. Si decide di procedere con il trattamento a base di cannabidiolo perché il trattamento convenzionale a base di antinfiammatori non steroidei, anche se efficace, non fornisce un sollievo adeguato e presenta effetti avversi che potrebbero precludere il loro uso, specialmente nei pazienti geriatrici e con comorbidità. I pazienti gastroenterici presentano gastroenteriti diagnosticate come autoimmuni, sindrome dell'intestino irritabile, IBD e gastroenteriti associata a pancreatite cronica. È presente una componente psichica ansiogena trattata con Librax®, antispastico associato a base di clordiazepossido e clidinio bromuro. L'assuefazione alle benzodiazepine ha reso necessario la sostituzione completa della terapia con il cannabidiolo. Per quanto riguarda i pazienti epilettici, si tratta di affetti da epilessia idiopatica e diagnosticata tramite TAC, già in terapia con fenobarbitale e bromuro di potassio. Un paziente è in terapia con levetiracetam in associazione ad epatoprotettori e cannabidiolo,

NEW



**NUOVA GAMMA DI
 TERMOMETRI E
 PULSOSSIMETRI**



— 50 —
 years of italian excellence

Materiale divulgativo riservato alle categorie professionali specializzate. FLAEM NUOVA si riserva di apportare modifiche tecniche e funzionali al prodotto della presente scheda senza alcun preavviso.

aggiunto per attenuare le crisi. I soggetti in questo caso sono refrattari alle terapie convenzionali. I risultati fin dalle prime applicazioni sono strabilianti: innanzitutto si assiste ad un miglioramento delle condizioni emotive, una riduzione degli spasmi associati alle patologie gastrointestinali, un effetto antalgico oltre che un miglioramento dell'effetto dei farmaci in associazione e una riduzione nella frequenza delle scariche epilettiche, soprattutto per quanto riguarda i pazienti refrattari alle terapie convenzionali e la preparazione rappresenta un'alternativa terapeutica valida per quei casi senza speranza. A tal proposito, uno dei casi più interessanti riguarda l'esperienza di Vito, cane meticcio di appena pochi mesi e ad oggi in cura con l'olio di cannabidiolo. Il paziente viene portato nella clinica "Le Querce" di Lecce (Puglia) dai proprietari con lo scopo di effettuare un'eutanasia dato l'elevato grado di sofferenza dell'animale il quale soffre di un dolore miopatico dall'eziologia sconosciuta. Risulta negativo a tutti i test sulle malattie genetiche, compresa la miastenia, il quale gli provoca forti tremori, urla e incapacità di prendere sonno. La caratteristica essenziale della patologia di cui è affetto Vito riguarda principalmente una condizione di dolore generalizzato, ma localizzato prevalentemente sul collo, legato ad una poliartrite immuno-mediata dall'eziologia ancora incerta. Non è ancora ad oggi chiaro se si tratti di una poliartrite post-traumatica, di una polimiosite o di una polineurite. L'olio di cannabidiolo, preparato in farmacia, si è dimostrato fin da subito una valida terapia, sostitutiva dei trattamenti precedenti, i quali non avevano apportato miglioramenti clinici e dai notevoli effetti collaterali. Già dopo tre settimane dall'inizio della terapia la condizione di Vito migliora tanto da renderlo vivace e libero nei movimenti. È da sottolineare il fatto che il metadone è efficace nel creare analgesia solo in associazione con l'olio ad uso farmaceutico in questa fase della terapia. Questo è attribuibile probabilmente ad un sinergismo di potenziamento, effetto importante dal punto di vista farmacologico. A distanza di quattro mesi Vito inizia delle sedute di fisioterapia data la perdita di tono muscolare generale e allo scopo di rinforzare i legamenti ormai lassi e le capsule articolari. In questa fase l'olio di cannabidiolo viene usato per evitare il dolore che verrebbe provocato dalle manovre effettuate dalla fisioterapista, il quale potrebbe far regredire il miglioramento relativo alle sedute svolte. Ad oggi il quadro clinico di Vito risul-

ta estremamente cambiato in positivo: i muscoli non sono contratti, è più fluido nei movimenti e l'umore risulta migliore e si rende disponibile al gioco. Le recidive della poliartrite sono attualmente sparite. Il lavoro di indagine sulle proprietà benefiche dell'olio di cannabidiolo non è terminato: il team di ricerca è rimasto in contatto con la Fisioterapista che sta seguendo Vito nella fase riabilitativa con lo scopo di iniziare a testarlo per la ripresa articolare dei cani facenti parte della squadra di soccorso della Protezione Civile, in quanto sottoposti costantemente a notevoli sforzi di lunga durata e successivamente alloggiati per la maggior parte del tempo in gabbia.

STABILITA' DELLA FORMULAZIONE

I campioni sono stati analizzati mediante spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (spettroscopia NMR) eseguita dal Prof. G. Fabrizi - Sapienza, Università di Roma- allo scopo di confrontare i campioni di cannabidiolo per uso alimentare in polvere e quello di cannabidiolo certificato GMP, oltre che di valutare la stabilità del preparato in olio dopo 20 giorni. Se si analizza lo spettro che mette a confronto il campione iniziale e il campione analizzato dopo 20 giorni, si vede che la sua stabilità è elevata. Questo è riconducibile ad una scarsa variabilità nel segnale tra un'analisi e l'altra, il che significa che il campione non va incontro, nell'arco di tempo considerato, a fenomeni ossidativi e la sua concentrazione non diminuisce. Ciò è avvalorato dal fatto che i due spettri analizzati non presentano sostanziali differenze e i picchi si trovano in zone "pulite" dello spettro. Se vi fosse stato qualche cambiamento nella composizione quantitativa, sarebbero comparsi altri segnali che avrebbero "inquinato" la zona considerata. È interessante notare che infatti seppur i segnali riferiti al cannabidiolo siano più piccoli, si trovano comunque in zone pulite dello spettro. In conclusione, il principio attivo è stabile e non si decompone nell'intervallo temporale considerato. Lo spettro NMR dei due campioni puri, ovvero privi di olio MCT, ha evidenziato identiche proprietà spettrali, ovvero all'analisi i due campioni risultano identici.

In conclusione, i risultati ottenuti hanno confermato quali siano i campi di applicazione delle preparazioni magistrali veterinarie a base di cannabidiolo. L'uso della Cannabis e dei suoi componenti è uno dei settori più attuali ed innovativi, ma al contempo anche tra i più discussi. A tal fine, è stata condotta

un'indagine clinica attraverso l'utilizzo di diverse schede di valutazione del dolore animale, analizzando i miglioramenti apportati dalla formulazione. Tra gli effetti avversi, si è avuto solamente un caso di movimento anomalo dell'orecchio, che una volta sospesa la terapia, è cessato. L'esatto dosaggio dipende molto dal singolo caso clinico ed è a discrezione del veterinario, che decide nel corso del trattamento di aumentare o diminuire la dose in base all'esigenza del soggetto. La formula magistrale a base di canabidiolo, secondo il parere del medico veterinario, risulta essere molto più efficace nella gestione del dolore nella maggior parte dei casi, soprattutto nei casi di osteoartrite, a differenza di prodotti in commercio come mangimi complementari a base di canabidiolo, che contengono però anche lieviti, mono e digliceridi degli acidi grassi esterificati con acidi organici e altri estratti vegetali, che sono presentati come in grado di controllare l'infiammazione e il danno ossidativo a livello articolare, oltre a contrastare la sintesi di mediatori infiammatori. Viene confermato inoltre che il preparato magistrale è efficace, stabile e sicuro, oltre al fatto che è personalizzabile e di impiego maneggevole.

È tuttavia importante tenere presente che vi è ancora molto da ricercare per quanto riguarda il profilo farmacocinetico relativo all'utilizzo del canabidiolo nei cani poiché sono ancora pochi gli studi che riportano tali dati.

Il risultato ottenuto da tale lavoro sperimentale vuole essere un elemento in più per ampliare la conoscenza riguardo l'utilizzo delle formulazioni magistrali a base di canabidiolo e può rappresentare un punto di partenza per approfondire in futuro sempre di più le conoscenze in questo campo anche grazie a diverse collaborazioni professionali.

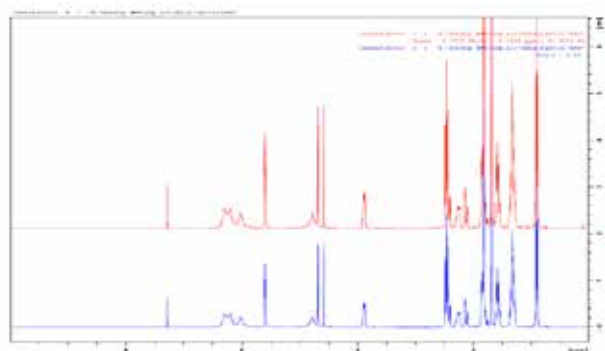


Figura 2: Confronto del campione a) iniziale (in blu) e analisi del campione dopo 20 giorni (in rosso).

Note

Lo studio presentato è stato sviluppato durante lo svolgimento della tesi di laurea sperimentale in Farmacia presso la Facoltà di Farmacia e Medicina, Sapienza Università di Roma con la supervisione della Professoressa Maria Carafa e del Dottor Pietro Siciliano

Bibliografia

1. Devinsky O, Cilio MR, Cross H et al. Cannabidiol: Pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuropsychiatric disorders. *Epilepsia* 2014 Jun; 55(6):791-802.
2. Doodipala SR et al. The Pharmacological Basis of Cannabis Therapy for Epilepsy. *J Pharmacol Exp Ther*. 2016; 357:45-55.
3. Tambaro S et al. Cannabinoid-related agents in the treatment of anxiety disorders: current knowledge and future perspectives. *Recent Patents CNS Drug Discovery*. 2012;7(1), 25 - 40.
4. Valastro C et al, Characterization of endocannabinoids and related acylethanolamides in the synovial fluid of dogs with osteoarthritis: a pilot study. *BMC Veterinary Research*.2017;13:309.
5. Aviello, G et al, Cannabinoids and gastrointestinal motility: animal and human studies, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2008; 12(1), 81-93.
6. Pagano E et al, An Orally Active Cannabis extract with high content in cannabidiol attenuates chemically-induced intestinal inflammation and hypermotility in the mouse, *Frontiers in Pharmacology*.2016.
7. Galiazzo G, Giancola F et al, Localization of Cannabinoid Receptors CB1, CB2, GPR55 and PPARα in the canine gastrointestinal tract, *Histochemistry and Cell Biology*. 2018; 1-19.
8. Gandini G, L'epilessia nel cane: un moderno approccio clinico e terapeutico, *Veterinaria*.2015; 1:9-19
9. Meola SD, Tearney CC, et al, Evaluation of trends in marijuana toxicosis in dogs living in a state with legalized medical marijuana:125 dogs (2005-2010). *J Vet Emerg Crit Care*. 2012;22:690-696.
10. Di Marzo V, Piscitelli F. The Endocannabinoid System and its Modulation by Phytocannabinoids, *The American Society for Experimental Neurotherapeutics*.2015; 12:692-698.
11. Iannotti FA, Hill CL et al, Nonpsychotropic plant cannabinoids, cannabidivarin (CBDV) and cannabidiol (CBC), activate and desensitize transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channels in vitro: potential for the treatment of neuronal hyperexcitability. *ACS Chem Neurosci*.2014;5:1131-1141.
12. Pertwee RG. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ9-tetrahydrocannabivarin, *British Journal of Pharmacology*.2008; 153:199-215.
13. Perucca E. Cannabinoids in the Treatment of Epilepsy: Hard Evidence at Last? *Journal of Epilepsy Research*.2017.
14. Jones NA, Glyn SE, Akiyama S et al., Cannabidiol exerts anti-convulsant effects in animal models of temporal lobe and partial seizure. *Seizure*.2012;21, 344-352.
15. Gamble LJ, Boesch JM, Frye C, et al. Pharmacokinetics, Safety, and Clinical Efficacy of Cannabidiol Treatment in Osteoarthritic Dogs. *Frontiers in Veterinary Science*.2018; 5:165.
16. Rossi G, Gioacchini G et al. Enterocolic increase of cannabinoid receptor type 1 and type 2 and clinical improvement after probiotic administration in dogs with chronic signs of colonic dysmotility without mucosal inflammatory changes. *Neurogastroenterol Motil*. 2019 Sep.

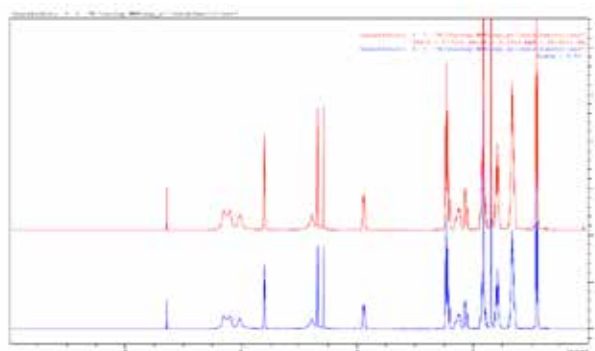


Figura 3: Confronto tra il CBD alimentare (in blu) e CBD GMP (rosso).