

BIBLIOTECA PEVGROW · EDICIÓN 2026

Antología de cannabinoides: química, calidad y salud del cannabis

Varios autores (IntechOpen)

2026

Traducción al español de una obra publicada en acceso abierto. Conserva la atribución de su fuente.

Antología de cannabinoides: química, calidad y salud del cannabis

Varios autores (IntechOpen)

2026

DE QUÉ TRATA

Traducción de tres capítulos de acceso abierto de IntechOpen: la química de los fitoquímicos del cannabis y sus efectos sobre la cognición, la evaluación de la calidad de las inflorescencias por espectrometría de masas, y la evidencia sobre cannabis y cerebro. Cada capítulo conserva autoría, DOI y licencia CC BY 3.0.

FICHA

Temas

ciencia, medicina, química, actualidad, español

Época

Actualidad (2000 en adelante)

Derechos

Original publicado en acceso abierto; conserva la atribución de su fuente.

Fuente del original

IntechOpen, CC BY 3.0

Edición

Traducción y maquetación de la Biblioteca de Pevgrow, 2026. Licencia CC BY 4.0 citando la fuente.

ÍNDICE

Capítulo 1 5

 Las sustancias químicas del cannabis: efectos beneficiosos de sus
 fitoquímicos sobre el cerebro y la cognición 5

Capítulo 2 21

 Características de calidad de las inflorescencias y productos derivados
 de Cannabis sativa L. medicinal 21

Capítulo 3 60

 El cannabis y el cerebro: ¿amigo o enemigo? 60

Colofón 82

Antología de cannabinoides

Tres estudios sobre química, calidad y salud del cannabis

Traducción al español de tres capítulos publicados en acceso abierto por IntechOpen.

Los originales están bajo licencia Creative Commons Atribución 3.0 (CC BY 3.0), que permite el uso comercial y las obras derivadas con atribución.

Nota editorial

Esta antología reúne tres capítulos que cubren los tres frentes que más consultan quienes trabajan con cannabis: la química de la planta y sus efectos sobre la cognición, la calidad del producto y su análisis, y la evidencia sobre salud y cerebro.

No es una selección por popularidad. Es una selección por utilidad: el segundo capítulo, en particular, describe cómo se evalúa la calidad de una inflorescencia mediante espectrometría de masas, un asunto que cualquier persona que compre o cultive cannabis debería entender.

La traducción es de Pevgrow. Cada capítulo conserva su autoría, su título original, su DOI y su licencia. Las referencias bibliográficas de los originales no se traducen y quedan disponibles en la fuente citada.

LAS SUSTANCIAS QUÍMICAS DEL CANNABIS: EFECTOS BENEFICIOSOS DE SUS FITOQUÍMICOS SOBRE EL CEREBRO Y LA COGNICIÓN

Katrina Weston-Green · 2019 Publicado originalmente en *Recent Advances in Cannabinoid Research* (IntechOpen, eds. Costain y Laprairie). DOI: [10.5772/intechopen.79266] (<https://doi.org/10.5772/intechopen.79266>) · Licencia CC BY 3.0 Título original: *The United Chemicals of Cannabis: Beneficial Effects of Cannabis Phytochemicals on the Brain and Cognition*

RESUMEN

El «cannabis medicinal» puede definirse como productos de grado farmacéutico a base de cannabis empleados para el tratamiento de enfermedades. Los efectos terapéuticos beneficiosos del cannabidiol (CBD), un compuesto mayoritario no intoxicante aislado de la planta de cannabis, se han demostrado en múltiples estados de deterioro cognitivo, incluidos los neurodegenerativos (enfermedad de Alzheimer, de Huntington y de Parkinson), los neuroinflamatorios (encefalopatía inducida por sepsis) y los trastornos neurológicos (lesión cerebral isquémica). El CBD puede también tratar algunos de los síntomas de la esquizofrenia, incluidos los déficits cognitivos (alteraciones del aprendizaje y la memoria), que constituyen un dominio sintomático mayor de la enfermedad en gran medida resistente a los antipsicóticos existentes. Sin embargo, la evidencia empírica sugiere la presencia de un «efecto séquito» en el cannabis; esto es, la observación de que el cannabis medicinal parece funcionar mejor en algunos casos cuando se administra como extracto de planta entera. Si bien la evidencia científica destaca al CBD aislado como un firme candidato para el tratamiento del deterioro cognitivo, el efecto séquito sugiere que la cooperación de otras moléculas de la planta podría aportar beneficios adicionales. Este capítulo explora la evidencia científica en torno a los beneficios del CBD y de otros fitoquí-

micos clave específicos del cannabis —linalool, α -pineno, β -cariofileno, flavonoides y antocianina— sobre la salud cerebral y la cognición.

Palabras clave: cannabis medicinal, efecto séquito, sinergia, cannabidiol, CBD, terpenos, linalool, alfa-pineno, beta-cariofileno, fenol, flavonoides, antocianinas, cannabis púrpura, marihuana, cognición, aprendizaje, memoria, cerebro, terapéutica, neuroprotección, inflamación

1. Introducción

La investigación demuestra que ciertas moléculas identificadas en la planta de cannabis son capaces de mejorar aspectos de la cognición. La cognición abarca múltiples aspectos del procesamiento del pensamiento, incluidos la toma de decisiones, la velocidad de procesamiento, el lapso de atención, el aprendizaje y la memoria. La disfunción cognitiva puede presentarse en una serie de enfermedades y estados patológicos, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, la demencia, la enfermedad de Parkinson, la esquizofrenia, la isquemia hipóxica, el ictus y la meningitis. Existe en la literatura existente evidencia particularmente sólida que respalda los efectos procognitivos del cannabinoide cannabidiol (CBD) en estados patológicos. Existe también evidencia de que otros fitoquímicos del cannabis aportan beneficios para la salud cerebral y la función cognitiva. Además, la presencia sugerida de un «efecto séquito» podría significar que el potencial terapéutico del CBD podría verse potenciado mediante interacciones sinérgicas con otros fitoquímicos. Por lo tanto, ciertas variedades de cannabis podrían conferir mayores beneficios para indicaciones clínicas particulares, presentando oportunidades únicas para el descubrimiento de nuevas terapias personalizadas. La identificación de compuestos beneficiosos específicos podría sustentar el fitomejoramiento selectivo de cultivares con perfiles fitoquímicos optimizados hacia la restauración de la función cerebral en enfermedades asociadas a disfunción cognitiva.

2. El cannabidiol (CBD) y el cerebro

El CBD es un cannabinoide mayoritario de *C. sativa*, considerado un subproducto metabólico más que un producto biosintético de la planta [1]. Recientemente ha habido un estallido de estudios que muestran

efectos beneficiosos del CBD en el cerebro, con evidencia que señala al CBD como una prometedora terapia novedosa para una serie de trastornos. En función de su capacidad para modificar la función cerebral y la conducta, es, por definición, «psicoactivo», pero el CBD no es intoxicante y actualmente no hay evidencia de que cause los efectos deletéreos alucinógenos, paranoizantes y ansiogénicos de los compuestos de tipo delta-tetrahidrocannabinol (Δ -THC), en particular el Δ 9-THC, que es el principal responsable del «colocón» inducido por el cannabis recreativo [2]. En cambio, el CBD posee un amplio espectro de propiedades terapéuticas, incluidos beneficios antipsicóticos, ansiolíticos, inmunomoduladores, antiinflamatorios, neuroprotectores y procognitivos en humanos y en modelos preclínicos de enfermedad. Aunque sus mecanismos de acción no están claros actualmente, los estudios muestran que el CBD es un modulador alostérico negativo del receptor cannabinoide 1 (CB1) [3], es un agonista parcial del subtipo de receptor de dopamina D2 de alta afinidad [4] y aumenta la señalización de la anandamida (AEA) [5], posiblemente mediante la inhibición de la enzima catabólica de la AEA, la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) [6].

2.1. El cannabidiol protege contra los daños cognitivos del cannabis con alto contenido de THC

En términos de cognición, nuestra reciente revisión sistemática de Osborne et al. [7] reveló un conjunto de evidencia clínica y preclínica que respalda los efectos procognitivos del CBD. Identificamos informes que demuestran que el CBD puede proteger contra los daños cognitivos del cannabis. Por ejemplo, los consumidores recreativos de cannabis con mayor contenido ($>0,75\%$) de CBD obtuvieron mejores resultados en pruebas de memoria verbal durante la intoxicación aguda en comparación con los consumidores de cannabis con los mismos niveles de Δ 9-THC pero bajo contenido ($<0,14\%$) de CBD [revisado en 7]. El pretratamiento con CBD (600 mg por vía oral) también protegió contra los déficits en el aprendizaje y la memoria verbales, y en aspectos de la memoria de trabajo, durante una prueba de provocación con Δ 9-THC (1,5 mg/kg por vía intravenosa (i.v.)) en participantes sanos ($n = 22$) [revisado en 7].

Los estudios de imagen de la última década han revelado una morfología cerebral alterada en regiones clave del cerebro implicadas en la cognición en consumidores de cannabis. Por ejemplo, los consumidores crónicos intensivos de cannabis ($n = 15$) presentan un volumen cerebral reducido en el hipocampo y la amígdala en comparación con controles no consumidores emparejados ($n = 16$) [8], y se detectaron aberraciones en la forma del hipocampo en consumidores de cannabis ($n = 15$ varones consumidores crónicos intensivos) que se exacerbaban en personas con esquizofrenia comórbida ($n = 8$ varones) en comparación con controles sanos [9]. Curiosamente, los consumidores habituales de cannabis con bajo contenido de CBD tenían volúmenes hipocampales reducidos en comparación con los no consumidores; una reducción que no se observó ni en los participantes que consumían cannabis con CBD ni en los antiguos consumidores [10]. Los autores de ese estudio concluyeron que el CBD podría reducir el daño a la salud cerebral causado por el consumo de cannabis, mientras que los períodos de abstinencia podrían recuperar el daño en los parámetros examinados [10]. Recientemente, se informó que 10 semanas de tratamiento oral con CBD (200 mg) aumentaron el volumen de regiones discretas del hipocampo en consumidores de cannabis ($n = 18$), con un mayor crecimiento observado en consumidores intensivos en comparación con los ligeros [11]. En conjunto, estos estudios apuntan a un efecto protector del CBD sobre las regiones cognitivas del cerebro durante el consumo de cannabis en humanos; sin embargo, se requieren ensayos controlados con placebo a mayor escala. Un mecanismo potencial para estos beneficios podría relacionarse con las características neuroprotectoras del CBD, en particular su capacidad para estimular la neurogénesis, la formación sináptica y el crecimiento neurítico (revisado en [12]).

Se han reportado resultados similares que respaldan un papel protector del CBD en estudios preclínicos. Por ejemplo, el CBD (0,5 mg/kg) aumentó el aprendizaje y la memoria visuales, y el aprendizaje procedimental en monos Rhesus a los que se coadministró $\Delta 9$ -THC (0,2 o 0,5 mg/kg) en comparación con aquellos a los que se administró $\Delta 9$ -THC solo; sin embargo, la memoria de trabajo espacial se vio más deteriorada por el tratamiento combinado (revisado en [7]). La exposición crónica a $\Delta 9$ -THC en ratones adolescentes (3 mg/kg diarios) redujo la memo-

ria de reconocimiento, que persistió hasta la edad adulta, pero esto no se manifestó en el grupo que recibió cotratamiento con CBD (3 mg/kg de CBD) durante la exposición a Δ^9 -THC [13]. Por otro lado, la investigación muestra que no hay efectos beneficiosos del CBD sobre la cognición, incluidos el aprendizaje y la memoria verbales, el reconocimiento social, la función ejecutiva, la memoria espacial o el aprendizaje condicionado, cuando se administra a sujetos sanos (humanos o roedores) (revisado en [7, 13]).

2.2. Tratamiento con cannabidiol para trastornos neurológicos y estados de enfermedad inflamatoria

2.2.1. Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer es la forma más común de demencia. Es un trastorno neurológico progresivo caracterizado por la presencia de placas y ovillos neurofibrilares en el cerebro. Los péptidos β -amiloides forman filamentos extracelulares densamente empaquetados (placas) que bloquean la señalización celular y desencadenan neuroinflamación. Los ovillos neurofibrilares son causados por proteínas asociadas al transporte llamadas tau, que forman estructuras retorcidas durante el estrés oxidativo y bloquean el transporte de nutrientes y otros elementos esenciales para la función neuronal [14]. La disrupción y destrucción progresivas de las sinapsis dan como resultado la pérdida de memoria y la disfunción cognitiva. Se ha propuesto un papel de los cannabinoides como terapia para la enfermedad de Alzheimer, en parte debido a las propiedades neuroprotectoras, antiinflamatorias y antioxidantes de los cannabinoides, así como al papel del sistema endocannabinoide en la memoria y en la patología de la enfermedad de Alzheimer (revisado en [15]). Un estudio encontró que Sativex®, que contiene Δ^9 -THC y CBD, redujo la deposición de tau y amiloide en el hipocampo y la corteza en un modelo murino de tauopatía [16]. Además, la administración de Δ^9 -THC y CBD mejoró los déficits de memoria en ratones transgénicos A β PP/PS1 con un fenotipo similar al de Alzheimer, pero no en ratones con deterioro cognitivo asociado al envejecimiento saludable [17]. Otro estudio atribuyó el tratamiento con CBD (20 mg/kg por vía oral, diario durante 8 meses) de los déficits de reconocimiento social en ratones A β PP/PS1 a la prevención de la neuroinflamación y a la homeostasis del

colecsterol, más que a una reducción de la carga amiloide [18]. Se requieren estudios clínicos para confirmar si las terapias con CBD/ Δ 9-THC pueden mejorar la salud y la función cerebral en personas con enfermedad de Alzheimer o demencia.

2.2.2. Enfermedad de Huntington

La enfermedad de Huntington es una enfermedad neurodegenerativa progresiva de origen genético, que se manifiesta con deterioro motor, declive cognitivo y síntomas conductuales. En un ensayo clínico cruzado, doble ciego y controlado con placebo, Sativex® (administrado por vía oral en 12 pulverizaciones/día) no fue capaz de mejorar las puntuaciones cognitivas, motoras o conductuales en una cohorte de pacientes con enfermedad de Huntington ($n = 24$) en comparación con controles tratados con placebo tras 12 semanas de tratamiento [19]. En un estudio cruzado, aleatorizado, doble ciego y de menor tamaño, el CBD solo (10 mg/kg/día, por vía oral) tampoco produjo eficacia sintomática alguna, incluida la memoria de recuerdo, en 15 pacientes con enfermedad de Huntington tras 6 semanas de tratamiento [20]. Sin embargo, se requieren estudios de cohortes amplias sobre la administración de CBD en personas con enfermedad de Huntington.

2.2.3. Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson se produce por la degeneración progresiva de las neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo, lo que resulta en un grave deterioro motor y pérdida del control motor. El CBD es un candidato terapéutico novedoso de primer orden para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson debido a sus propiedades neuroprotectoras. Sin embargo, un estudio clínico no informó mejoría en las puntuaciones de síntomas motores o generales en pacientes tratados con CBD (75 o 300 mg/día) en comparación con controles tratados con placebo ($n = 7/\text{grupo}$), aunque la calidad de vida global mejoró significativamente en el grupo de tratamiento con 300 mg de CBD en comparación con los controles tratados con placebo [21]. Otro estudio clínico (estudio piloto abierto, $n = 6$) de pacientes con enfermedad de Parkinson con psicosis reveló mejorías significativas en las puntuaciones psiquiátricas, pero no en la función motora, tras la administración de CBD (>150 mg/día de

CBD oral) durante 4 semanas en combinación con la medicación existente de L-dopa [22]. Por otro lado, el CBD (0,5 o 5 mg/kg de CBD administrados en cuatro inyecciones) previno la disfunción cognitiva y motora cuando se administró antes del tratamiento con reserpina en un modelo roedor de enfermedad de Parkinson [23].

2.2.4. Lesión cerebral isquémica

La lesión cerebral debida a la obstrucción del flujo sanguíneo y al daño hipóxico puede resultar en un declive cognitivo inmediato y progresivo. La lesión cerebral isquémica puede ocurrir tras eventos como un ictus, un paro cardíaco, un casi ahogamiento o complicaciones del parto que resultan en asfixia perinatal.

Ratas expuestas a isquemia hipóxica al nacer mostraron déficits de memoria de reconocimiento que fueron atenuados por CBD (1 mg/kg) administrado por vía subcutánea 10 min después de la isquemia, mientras que el tratamiento con CBD (3, 10 o 30 mg/kg 30 min antes y 3, 24 y 48 h después del insulto isquémico) incrementó la memoria espacial en comparación con ratas isquémicas tratadas con placebo (revisado en [7]). En un estudio posterior, el tratamiento agudo con CBD (5 mg/kg, intraperitoneal (i.p.)) redujo la apoptosis, la pérdida neuronal y la neuroinflamación en ratas neonatales isquémicas [24], aportando indicios mecanísticos sobre los efectos restauradores conductuales del CBD durante el daño cerebral hipóxico. Se ha registrado un ensayo clínico que investiga la eficacia de THC:CBD sobre la espasticidad tras un ictus [25]; sin embargo, no se ha propuesto la evaluación cognitiva como medida de resultado del tratamiento.

2.2.5. Encefalopatía inducida por sepsis

La sepsis es un estado inflamatorio sistémico potencialmente mortal que se produce cuando el cuerpo intenta eliminar un patógeno. Puede causar un deterioro cognitivo rápido, en particular un declive de la memoria que inicialmente se consideraba un estado transitorio restaurado mediante la destrucción del patógeno y la atenuación de la respuesta inflamatoria. Sin embargo, la sepsis también se asocia con encefalopatía, un estado patológico del cerebro que puede manifestar síntomas que van desde cambios leves de personalidad hasta deterioro cognitivo y motor, letargo y coma. La encefalopatía inducida por sepsis puede estar causada por un aumento de la permeabilidad de la barrera hema-

toencefálica y por neuroinflamación que pueden conducir a un deterioro funcional permanente y aumentar la susceptibilidad a trastornos neurodegenerativos posteriores tras la recuperación [26]. El tratamiento subcrónico con CBD mejoró el aprendizaje asociativo en un modelo roedor de sepsis (CBD administrado a 2,5, 5 o 10 mg/kg diarios durante 9 días) en comparación con controles tratados con vehículo (revisado en [7]). El tratamiento con CBD (dosis aguda única de 3 mg/kg, i.v.) también preservó la integridad de la barrera hematoencefálica, restauró la función endotelial vascular normal y redujo la inflamación en el cerebro de ratón durante el shock endotóxico inducido por la administración de lipopolisacárido (LPS) [27], un componente de la pared celular de bacterias Gram-negativas que puede utilizarse para modelar una respuesta proinflamatoria excesiva en el huésped.

2.2.6. Esquizofrenia

La esquizofrenia es un trastorno crónico del neurodesarrollo caracterizado por tres dominios sintomáticos principales: positivo (p. ej., alucinaciones, delirios y paranoia), negativo (p. ej., retraimiento social, expresión emocional aplanada, falta de motivación) y déficits cognitivos. Los antipsicóticos existentes confieren beneficios cognitivos mínimos o nulos (en algunos casos pueden deteriorar aún más la cognición) [28], y pueden causar efectos secundarios graves de aumento de peso y diabetes [29, 30]. Recientemente descubrimos que el CBD crónico (10 mg/kg de CBD, i.p., dos veces al día (b.i.d.)) trató el deterioro cognitivo (memoria de aprendizaje, de trabajo y de reconocimiento) y los déficits de interacción social en un modelo de infección prenatal en rata (poly I:C) de fenotipos similares a la esquizofrenia [31]. No se observaron cambios conductuales en ratas sanas a las que se administró CBD y el CBD no causó efectos secundarios de aumento de peso [31]. Un estudio clínico anterior (ensayo clínico de fase II, unicéntrico, doble ciego, aleatorizado, controlado, de grupos paralelos de CBD frente a amisulprida) había informado de una mejoría de los síntomas positivos y negativos en personas con esquizofrenia tras 4 semanas de tratamiento con CBD, con una eficacia terapéutica similar a la del antipsicótico comercial amisulprida; sin embargo, no se examinó la función cognitiva [5]. Más recientemente, un ensayo clínico multicéntrico

doble ciego de grupos paralelos examinó la eficacia del cotratamiento con CBD junto con la medicación antipsicótica existente del paciente sobre una serie de criterios de valoración, incluidos las puntuaciones positiva, negativa y cognitiva y las escalas de Impresión Clínica Global (CGI, que mide la gravedad de la enfermedad, la mejoría y la respuesta al tratamiento) [32]. Los resultados mostraron mejorías significativas en los síntomas positivos (no negativos) y en las puntuaciones CGI, así como cierta mejoría en el rendimiento cognitivo (no alcanzó significación estadística, $p = 0,068$ CBD frente a placebo) cuando el CBD se combinó con la medicación antipsicótica existente del paciente [32].

2.3. Conclusiones sobre el uso de CBD en la enfermedad neurológica

Existe una evidencia científica sustancial que demuestra los efectos beneficiosos del CBD en el cerebro, con protección y eficacia terapéutica para diversas conductas cognitivas conferidas en múltiples estados patológicos. En general, parece existir una necesidad general de más ensayos clínicos controlados con placebo, así como de investigación de la eficacia y la seguridad a largo plazo en diferentes poblaciones de personas. También se requiere evidencia sobre pautas de dosificación óptimas específicas para cada enfermedad (dosis, vía de administración, momento y número de dosis diarias, efecto de medicaciones concurrentes, etc.). Además, de forma similar a nuestro estudio en roedores de los efectos del CBD sobre la cognición en la esquizofrenia [31], la mayoría de los estudios utilizan CBD aislado o THC y CBD combinados. Si bien esta metodología permite a los investigadores atribuir los resultados a un compuesto específico, puede no ser el enfoque terapéutico óptimo, ya que se piensa que las moléculas vegetales derivadas del cannabis interactúan y producen una sinergia que potencia los efectos terapéuticos, denominada «efecto séquito».

3. El efecto séquito

El efecto séquito se define como la acción por la cual los compuestos (tanto los fitoquímicos del cannabis como los compuestos del sistema cannabinoide endógeno) aumentan o apoyan los efectos de los cannabinoides principales, por ejemplo, Δ^9 -THC, CBD, 2-araquidonil-glicerol (2-AG) [33, 34]. Este fenómeno se ha comparado con una orquesta en la que «muchos músicos apoyan y armonizan la melodía proporcionada por los solistas» [34]. Los compuestos pueden ejercer efectos sinérgicos a través de varios mecanismos, por ejemplo, interac-

tuando entre sí para mejorar la biodisponibilidad de compuestos beneficiosos, o mediante acciones combinadas sobre diferentes dianas terapéuticas [35]. El concepto de un efecto séquito del cannabis se basa en gran medida en evidencia anecdótica de usuarios medicinales y recreativos que atestiguan la noción de que el cannabis «funciona mejor» como extracto de planta entera, y su existencia ha sido debatida a lo largo del tiempo. Sin embargo, hay evidencia que sugiere que la planta de cannabis contiene ingredientes activos así como «sinergistas» que potencian los efectos de la droga por encima de los del compuesto aislado. En efecto, la temprana descripción de una posible sinergia entre moléculas de la planta de cannabis provino de un estudio de la década de 1970 que informó de déficits 2–4 veces mayores en parámetros como tareas de procesamiento y función motora en sujetos a los que se administraron muestras de cannabis brasileño en comparación con Δ^9 -THC [36]. La frase «efecto séquito» se describió por primera vez en 1998 en respuesta al hallazgo de que ciertas

The United Chemicals of Cannabis: Beneficial Effects of Cannabis Phytochemicals on the Brain and Cognition

moléculas endógenas (2-linoleoil-glicerol (2-LG) y 2-palmitoil-glicerol (2-PG)) potenciaban los efectos del endocannabinóide 2-AG [33]. Curiosamente, las neuronas hipocámpales cultivadas expuestas a extractos de planta ricos en CBD exhiben una respuesta de señalización intracelular significativamente mayor en comparación con el CBD solo [37]. Esto proporciona evidencia preliminar (in vitro) de que los extractos de planta ricos en CBD ejercen mayores efectos sobre las células del hipocampo (una región del cerebro muy implicada en el aprendizaje y la memoria) que el CBD aislado. En general, podría ser posible potenciar la eficacia terapéutica procognitiva del CBD mediante un enfoque sinérgico. Los estudios muestran que cannabinoides distintos del CBD podrían conferir efectos beneficiosos sobre el cerebro mediante mecanismos sinérgicos, por ejemplo, el fitocannabinóide parental cannabigerol (CBG) ejerció mayores efectos analgésicos en ratones que el Δ^9 -THC solo, mientras que el CBG y el cannabícromeno (CBC) tienen ambos efectos anti-depresivos en roedores (revisado en [38]) y el CBG es neuroprotector en un modelo murino de la enfermedad de Huntington [39]. Sin embargo,

la sección 4 se centrará en varios fitoquímicos clave del cannabis no cannabinoides con evidencia prometedora de efectos positivos sobre la función cerebral.

4. Fitoquímicos no cannabinoides del Cannabis: terpenos, flavonoides y antocianinas La planta de cannabis contiene cientos de fitoquímicos, identificándose con frecuencia nuevos compuestos y metabolitos. La concentración de sustancias químicas en una planta de cannabis puede verse influida por múltiples factores, incluidos la nutrición, la humedad, la temperatura, la edad de la planta, la variedad, el momento de la cosecha, el estrés de la planta, el órgano y las condiciones de almacenamiento [1, 40]. Por lo tanto, la composición fitoquímica de la planta es muy variable. La variabilidad identificada incluso dentro de la misma variedad ha llevado a algunos autores a concluir que el nombre de una variedad de planta no indica necesariamente la potencia o la composición química [41]. Sin embargo, otros encontraron que, cuando se cultivan en condiciones estandarizadas, ciertas variedades de cannabis pueden proporcionar perfiles reproducibles de terpenos y fitocannabinoides que se han considerado marcadores quimiotaxonómicos [42]. Además, el contenido de cannabinoides puede utilizarse para clasificar las plantas en quimiovariedades (plantas con perfiles fotoquímicos distintos): Tipo I dominante en Δ^9 -THC, Tipo II Δ^9 -THC y CBD, Tipo III dominante en CBD, y pueden establecerse distinciones fuera de estas clases basadas en perfiles específicos de terpenos [43]. Por lo tanto, es posible optimizar las plantas para reproducir una composición química distinta y, potencialmente, características medicinales específicas.

4.1. Terpenos: linalol, alfa-pineno y beta-cariofileno Los terpenos han sido descritos como la clase más abundante de pequeñas moléculas naturales por masa en la Tierra, desempeñando innumerables funciones estructurales y funcionales en la mayoría de las formas de vida del planeta (p. ej., colesterol como componentes estructurales y de señalización de las membranas celulares, retinal en el ojo para la visión, carotenoides en la fotosíntesis) [44]. En el cannabis, crean fragancias y sabores, pero también se encuentran en otras plantas y se utilizan comúnmente como aditivos alimentarios seguros [38]. Los terpenos pueden atravesar la barrera hemoencefálica debido a su naturaleza lipofílica y los estudios han demos-

trado una serie de beneficios para la salud de algunos terpenos presentes en el cannabis.

Recent Advances in Cannabinoid Research

4.1.1. Linalol El linalol es un monoterpeno abundante en plantas aromáticas, como la lavanda y la albahaca morada [45]. La evidencia muestra que la administración crónica de linalol revierte los déficits de memoria espacial y aprendizaje, con una reducción de la deposición de placas amiloides y de la disfunción de tau en el hipocampo en modelos roedores de la enfermedad de Alzheimer [46, 47], utilizando 25 mg/kg y 100 mg/kg de linalol, respectivamente. El linalol también previno déficits de memoria espacial, función motora, neuroinflamación y neurodegeneración postisquémica en un modelo de rata de isquemia cerebral global, tras administración oral diaria (25 mg/kg) durante 1 mes [48]. Sin embargo, se encontró una reducción de la memoria de reconocimiento a corto y largo plazo (50 y 100 mg/kg de linalol, i.p.) [49] y de la adquisición de memoria (preparación al 3% para inhalación) [50] cuando el linalol se administró como dosis única a ratas sanas. Esta aparente contradicción en los hallazgos podría atribuirse a la administración de linalol a ratas sanas frente a ratas con deterioro cognitivo, lo que sugiere que el compuesto ejerce beneficios en un estado patológico pero es perjudicial cuando no se requiere patofisiológicamente; sin embargo, se necesita más investigación para confirmarlo.

4.1.2. Alfa-pineno El alfa-pineno (α -pineno) es un monoterpeno muy abundante que se encuentra en árboles coníferos (p. ej., pino y abeto) y en el cannabis [51] que, según la cultura del cannabis, proporciona fragancias y sabores a aguja de pino al cannabis. En ratones con déficits cognitivos causados por el bloqueo inducido por escopolamina de la neurotransmisión de acetilcolina (manifiesto en etapas avanzadas de la enfermedad de Alzheimer [52]), el α -pineno (10 mg/kg, i.p.) mejoró la memoria de trabajo y espacial, y aumentó los marcadores de síntesis de acetilcolina en la corteza [53]. La inhalación de α -pineno también puede influir en la señalización de los principales neurotransmisores del cerebro, por ejemplo, mejoró la calidad y la duración del sueño en ratones modulando el principal sistema de señalización de neurotransmisores inhibidores, el ácido gamma-aminobutírico (ácido γ -aminobutírico, GABA) [54], y disminuyó la conducta

similar a la ansiedad que se asoció con un aumento de la tirosina hidroxilasa (la enzima limitante de la velocidad para la síntesis de dopamina) en el mesencéfalo [55]. Otro estudio informó de mejorías significativas en la memoria de evitación de ratones con deterioro cognitivo tras la administración de un aceite esencial obtenido de un abeto coreano que contenía α -pineno [56]; sin embargo, los resultados no pueden atribuirse enteramente a este terpeno debido al uso de un extracto de planta entera que contenía otros constituyentes.

4.1.3. Beta-cariofileno

El beta-cariofileno (β -cariofileno) es un sesquiterpeno que tiene una débil característica amaderada-especiada, abundante en el clavo, la pimienta negra, la canela y el tomillo [57, 58]. En un modelo murino de la enfermedad de Alzheimer, el β -cariofileno revirtió los déficits de memoria espacial, redujo la deposición de β -amiloide en el hipocampo y la corteza, y redujo la neuroinflamación cuando se administró durante 10 semanas (48 mg/kg, oral) [59]. En ratas con isquemia cerebral crónica similar a la demencia vascular, el β -cariofileno (administrado en un sistema de liberación de complejo de inclusión de hidroxipropil- β -ciclodextrina para mejorar su biodisponibilidad) atenuó los déficits cognitivos y aumentó el flujo sanguíneo cerebral [60]. El β -cariofileno también previno el estrés oxidativo en la corteza de ratas tras hipoperfusión/reperfusión cerebral global transitoria [61].

The United Chemicals of Cannabis: Beneficial Effects of Cannabis Phytochemicals on the Brain and Cognition

Se observó una mejora de las puntuaciones neurológicas en ratones a los que se administró β -cariofileno (24 y 72 mg/kg, i.p.) tras un ictus inducido [62], y se comunicó un comportamiento de tipo antidepresivo en ratones sanos tras la administración de β -cariofileno, mediante mecanismos que implican la neurotransmisión catecolaminérgica (adrenérgica) [63]. En conjunto, los estudios aportan cierta evidencia que respalda el papel del β -cariofileno como procognitivo, con efectos antiinflamatorios, neuroprotectores y antidepresivos.

4.2. Ácidos fenólicos: flavonoides y antocianinas

Además de los terpenos, las plantas de cannabis contienen compuestos fenólicos, entre ellos flavonoides y antocianinas [40, 64-66]. Los flavo-

noides se consumen habitualmente por los seres humanos a través de la ingesta dietética de frutas, verduras, té y vino. Las antocianinas son un grupo de flavonoides responsables de los colores azul-violeta y rojo-anaranjado de los órganos vegetales. Ciertas variedades de plantas de cannabis exhiben un fenotipo púrpura (Figura 1), lo que se atribuye ampliamente al contenido de antocianinas en la cultura del cannabis recreativo; sin embargo, parecen faltar datos experimentales que muestren los niveles de antocianinas de las variedades púrpuras en comparación con las no púrpuras.

Los flavonoides y las antocianinas han sido ampliamente investigados debido a sus características neuroprotectoras, antiinflamatorias y procognitivas, y pueden atravesar la barrera hematoencefálica [67]. Por ejemplo, un estudio halló que el pretratamiento con antocianinas (200 mg/kg por vía oral durante 7 días) prevenía los déficits cognitivos en un modelo de demencia en ratas [68]. Los flavonoides mejoran la memoria de trabajo, la velocidad de procesamiento, la función ejecutiva y la memoria episódica en los seres humanos (revisado en [69, 70]) y estimulan la neurogénesis, la plasticidad sináptica y la reducción de la neuroinflamación en el hipocampo (revisado en [71]). El zumo de cereza rico en antocianinas mejoró la fluidez verbal y el rendimiento de la memoria a corto y largo plazo en personas con demencia leve a moderada durante un ensayo clínico aleatorizado y controlado de 12 semanas en personas mayores (+70 años) con demencia leve a moderada (200 ml/día de zumo de cereza frente a zumo control sin antocianinas) [72]. Curiosamente, tanto las cerezas como las plantas de cannabis contienen ácidos fenólicos relacionados con las rutas de biosíntesis de flavonoides y antocianinas [65, 73]. En efecto, el extracto de semilla de cáñamo puede contener niveles de compuestos fenólicos comparables a los de las ciruelas japonesas [74, 75]. Las ciruelas japonesas son una fuente importante de

Figura 1. Inflorescencia de un cultivar de cannabis medicinal rico en cannabidiol (CBD) y bajo en $\Delta 9$ -tetrahidrocannabinol ($\Delta 9$ -THC) de color púrpura, GHM Genetic Development, Ámsterdam, Países Bajos (2018).

antocianinas, con niveles particularmente altos en los frutos de colores púrpura oscuro, azul y negro [75]. De forma similar a las plantas de cannabis, el perfil fitoquímico de las variedades de ciruela japonesa se ve influido por las prácticas hortícolas, el procesamiento y las condiciones de almacenamiento [75]. Otras plantas comerciales, como la coliflor violeta y la albahaca púrpura tailandesa, adquieren su coloración púrpura inusual mediante modificaciones de los genes reguladores de las antocianinas [76, 77]. Por lo tanto, es posible que las plantas puedan manipularse de forma natural y artificial (es decir, genéticamente) para maximizar el contenido de antocianinas.

4.3. Conclusiones sobre los efectos de los terpenos y los flavonoides en el cerebro

Los terpenos linalol, α -pineno y β -cariofileno, así como los flavonoides y las antocianinas, confieren efectos procognitivos, neuroprotectores y antiinflamatorios en modelos de isquemia cerebral y enfermedad de Alzheimer, así como algunos efectos ansiolíticos. La mayoría de los estudios se han realizado en modelos preclínicos (roedores); sin embargo, los efectos procognitivos de los flavonoides y las antocianinas se han demostrado en estudios clínicos humanos de demencia. En conjunto, las combinaciones de CBD con otros fitoquímicos clave presentes en el cannabis podrían conferir beneficios para la salud cerebral mediante una sinergia multiobjetivo (efecto séquito); sin embargo, se requiere más investigación.

5. Conclusión general

Este capítulo ha identificado un consenso en la literatura científica de que fitoquímicos específicos (CBD, linalol, α -pineno, β -cariofileno, flavonoides y antocianinas) presentes en las plantas de cannabis son beneficiosos para la cognición y la salud cerebral en varios estados patológicos. Estos compuestos son psicoactivos, ya que alteran el cerebro para modificar la conducta, y existe cierta evidencia de que pueden afectar de forma diferencial a individuos sanos (por ejemplo, el CBD no aporta beneficios cognitivos y el linalol tiene efectos perjudiciales sobre la cognición en sujetos sanos). Por lo tanto, es necesaria una consideración social del «cannabis medicinal» como una verdadera medicina, es decir,

prescrito para pacientes que requieren tratamiento de una enfermedad clínicamente diagnosticada. Se necesita más investigación para fundamentar la prescripción óptima en el tratamiento de enfermedades específicas, incluidos la dosis, la vía de administración, la eficacia clínica a largo plazo, la seguridad y los efectos secundarios. Existe cierta evidencia que respalda la existencia de un «efecto séquito»; tal sinergismo podría surgir de un enfoque multiobjetivo. Los beneficios conjuntos de terpenos y flavonoides específicos podrían potenciar el potencial terapéutico del CBD para mejorar la cognición en estados patológicos que manifiestan deterioro; actualmente estamos investigando estas sinergias en mi laboratorio. Otra apasionante área futura de investigación es la identificación de perfiles fitoquímicos selectos del cannabis que traten enfermedades específicas con una eficacia óptima. A continuación, los esfuerzos por estandarizar las prácticas hortícolas y de procesamiento de la planta de cannabis para garantizar medicinas óptimas y reproducibles pueden dirigirse hacia un objetivo probado: una interfaz traslacional entre la ciencia médica y la horticultura.

Agradecimientos

Deseo reconocer el trabajo de Ashleigh L. Osborne, la profesora Nadia Solowij y el distinguido profesor Xu-Feng Huang como coinvestigadores de nuestro proyecto que examina los

The United Chemicals of Cannabis: Beneficial Effects of Cannabis Phytochemicals on the Brain and Cognition

efectos procognitivos del CBD en un modelo de esquizofrenia en roedores. Gracias al Sr. Heiko Hampsink, GHM Genetic Development, Países Bajos, por facilitar la fotografía del cannabis púrpura. Extiendo mi gratitud al Sr. Thomas Forrest (Indicated Technology, Australia) y al Sr. Heiko Hampsink por compartir generosamente sus conocimientos sobre horticultura del cannabis.

Conflicto de intereses

No hay conflictos de intereses que declarar.

Notas/Agradecimientos/Otras declaraciones

Dedico este capítulo de libro a mi esposo, M. Green, por su incansable apoyo.

Datos del autor

Katrina Weston-Green^{1,2,3,4*}

*Dirección para toda correspondencia: katrina_green@uow.edu.au 1 Neuropharmacology and Molecular Psychiatry Research Laboratory, School of Medicine, Faculty of Science, Medicine and Health, University of Wollongong, NSW, Australia 2 Molecular Horizons, Faculty of Science, Medicine and Health, University of Wollongong, NSW, Australia 3 Illawarra Health and Medical Research Institute, Wollongong, NSW, Australia 4 Australian Centre for Cannabinoid Clinical and Research Excellence, New Lambton Heights, NSW, Australia

Capítulo 2

CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD DE LAS INFLORESCENCIAS Y PRODUCTOS DERIVADOS DE CANNABIS SATIVA L. MEDICINAL

Lorenzo Calvi, Radmila Pavlovic, Sara Panseri, Luca Giupponi, Valeria Leoni y Annamaria Giorgi · 2019 Publicado originalmente en *Recent Advances in Cannabinoid Research (IntechOpen, eds. Costain y Laprairie)*. DOI: [10.5772/intechopen.79539] (<https://doi.org/10.5772/intechopen.79539>) · Licencia CC BY 3.0 Título original: *Quality Traits of Medical Cannabis sativa L. Inflorescences and Derived Products*

RESUMEN

Cannabis sativa L. ha sido cultivada en todo el mundo con fines industriales y médicos y es la planta más controvertida jamás explotada, con considerables discrepancias en el elogio y la desaprobación que recibe. Las prescripciones de Cannabis medicinal están aumentando en varios

países donde su uso terapéutico está autorizado debido a su papel positivo en el tratamiento de varias patologías, aunque representa una realidad multifacética en términos de aplicación. Se han identificado al menos 550 compuestos en *C. sativa* L., incluidos más de 100 fitocannabinoides y 120 terpenos. La complejidad química de sus constituyentes bioactivos pone de relieve la necesidad de enfoques analíticos estandarizados y bien definidos capaces de caracterizar el quimiotipo de la planta y la calidad de la droga herbal, así como de monitorizar la calidad de los extractos y preparaciones farmacéuticas de cannabis. Esta investigación destaca el potencial del uso de diferentes procedimientos analíticos que implican la combinación de microextracción en fase sólida por espacio de cabeza (HS-SPME) acoplada a GC-MS y extracción acelerada con disolventes (ASE) acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (HPLC-Q Orbitrap®) para el perfilado en profundidad de los rasgos de calidad en variedades medicinales autorizadas de flos de *Cannabis sativa* L. (Bediol®) y las correspondientes preparaciones de aceite macerado. Este enfoque podría aportar nuevos conocimientos al campo de las aplicaciones analíticas «ómicas», fundamentales hoy en día para el Cannabis utilizado con fines terapéuticos. Palabras clave: Bediol®, terpenos, cannabinoides, GC-MS, HS-SPME, HPLC-Q-ExactiveOrbitrap-MS, *Cannabis sativa* L

Recent Advances in Cannabinoid Research

1. Introducción El cannabis (*Cannabis sativa* L.) es la planta más controvertida jamás explotada, con una considerable discrepancia en el elogio y la desaprobación que recibe. Resulta intrigante que el cannabis produzca las sustancias naturales que parecen dirigirse a receptores proteicos clave de importantes sistemas fisiológicos de manera bastante selectiva [1]. Las plantas que contienen tales metabolitos secundarios suelen pertenecer a quimiotaxones únicos que inducen potentes efectos farmacológicos y típicamente se han utilizado con fines recreativos y medicinales. *Cannabis sativa* L. tiene una larga historia como planta medicinal y fue fundamental en el descubrimiento del sistema endocannabinoide. Durante las últimas décadas, se ha llevado a cabo una considerable investigación para permitir establecer una clara distinción entre el cannabis como droga peligrosa y como medicamento beneficioso [2, 3]. El uso

medicinal autorizado del cannabis sigue asociado a dudas sobre su uso seguro debido a algunas cuestiones ambiguas, incluida la cantidad, la dinámica y la forma de administración [4]. Los medicamentos basados en cannabis se han utilizado con fines terapéuticos en muchas culturas durante siglos. En Europa, se utilizaban a finales del siglo XIX para tratar el dolor, los espasmos, el asma, los trastornos del sueño, la depresión y la pérdida de apetito. En la primera mitad del siglo XX, los medicamentos cannabinoides cayeron en un desuso casi completo, en parte porque los científicos no pudieron establecer la estructura química de los principales ingredientes de la planta de cannabis. La aparición del interés por el cannabis medicinal botánico es considerada por muchos como un efecto colateral de la epidemia de abuso de opioides; la percepción pública en torno al uso del cannabis medicinal sugiere que esta terapia basada en plantas se ve como no muy diferente de un producto o suplemento farmacológico botánico utilizado para la salud o el alivio de síntomas si la enfermedad persiste. Sin embargo, al igual que algunas preparaciones herbales o suplementos, el cannabis medicinal puede plantear de manera similar riesgos para la salud asociados a su uso, incluidos efectos psicoactivos, intoxicantes y debilitantes, que no han sido completamente dilucidados mediante ensayos clínicos. El método de su aplicación con fines terapéuticos depende ciertamente de su perfil de fitocannabinoides: se definen más de 70 cannabinoides en *Cannabis sativa* L. Se clasifican químicamente en 10 categorías más importantes, donde los tipos THC, cannabidiol (CBD), cannabigerol (CBG), cannabicromeno (CBC) y cannabinol (CBN) se reconocen como los más relevantes [5]. El principal constituyente del cannabis es el THC, responsable de las características psicoactivas del cannabis debido a su alta afinidad por los receptores cannabinoides. La mayoría de los efectos de las preparaciones de cannabis se basan en la acción agonista del THC sobre los diversos receptores cannabinoides. Se han identificado dos receptores endocannabinoides primarios: CB1 y CB2 [6]. Los receptores CB1 se encuentran predominantemente en el cerebro y el sistema nervioso, así como en órganos y tejidos periféricos, y son el principal objetivo molecular de la molécula de unión endocanabinoide, la anandamida, así como de su fitocanabinoide mimético, el THC. Otro componente importante es el cannabidiol (CBD), que se ha demostrado que posee va-

rias propiedades farmacológicas (analgésicas, antioxidantes y antihipertónicas), pero no actividad psicotrópica como el THC [7]. La presencia y cantidad de CBD es esencial en el uso terapéutico del cannabis, porque reduce los efectos colaterales del THC. Además, constituyentes menores como CBC y CBG exhiben actividad antiinflamatoria, antibacteriana y antifúngica, mientras que el CBN tiene fuertes propiedades sedantes [5, 7]. En cuanto a las preparaciones basadas en cannabidiol (CBD) que se están volviendo extremadamente populares, ya que se ha demostrado que el CBD tiene efectos beneficiosos sobre la salud humana, un trabajo reciente destacó una amplia variabilidad en el perfil de cannabinoides que justifica la necesidad de regulaciones estrictas y estandarizadas [8]. Aunque el CBD y el THC son las moléculas clave, la planta misma es capaz de producir solo sus contrapartes ácidas: ácido cannabidiólico (CBDA) y ácido tetrahidrocannabinólico (THCA) [9]. La descarboxilación de estas formas conduce a la formación de especies químicas bioactivas, CBD y THC, respectivamente. El CBDA y el THCA son los componentes principales de la inflorescencia de cannabis, mientras que entre los otros ácidos cannabinoides, se muestra que el ácido cannabigerólico (CBGA) es esencial debido a que es un precursor de todos los demás ácidos cannabinoides. Vale la pena mencionar los otros cannabinoides ácidos menores, como el ácido cannabicroménico (CBCA), que también da análogos neutros correspondientes tras la descarboxilación. En la actualidad, la comunidad médica y científica internacional ha reconocido ampliamente a *Cannabis sativa* L. como una fuente prometedora de agentes terapéuticos para el tratamiento de ciertas enfermedades como la esclerosis múltiple, el VIH, la epilepsia, el glaucoma, la quimioterapia, el dolor crónico, las náuseas/vómitos [10, 11]. Desafortunadamente, a pesar de la aparición de una enorme cantidad de literatura preclínica que describe las acciones y efectos de algunos cannabinoides, hasta ahora ha habido relativamente pocas publicaciones que describan los efectos producidos por los cannabinoides en estudios clínicos realizados con sujetos humanos. Es importante destacar que un medicamento basado en cannabis, Sativex®, aprobado por la asociación médica europea (EMA), fue autorizado recientemente en 18 países europeos para el tratamiento de los síntomas de temblor y espasticidad asociados a la esclerosis múltiple [12]. Además, otros fármacos cannabinoides, Cesamet® (Nabilo-

na) y Marinol® (tetrahidrocannabinol (THC) sintético) se aplicaron con éxito para el tratamiento de los vómitos y las náuseas causados por la terapia contra el cáncer. Algunas otras sustancias derivadas del cannabis parecen estar en suspenso. Por ejemplo, Epidolex®, un fármaco experimental derivado de un medicamento basado en cannabis para el tratamiento de la epilepsia infantil, está a punto de convertirse en el primero de su clase en obtener la aprobación gubernamental de la FDA [13]. Las cápsulas, los extractos de cannabis como el spray bucal o los aceites, el cannabis seco para inhalación o en infusión son los principales productos médicos aprobados por la UE, según el Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías (EMCDDA) 2017 [14]. Dentro de la UE no existe acuerdo sobre la legalización del cannabis medicinal, pero parece avanzar hacia un mayor uso más rápido que en el pasado [15, 16]. Por el momento, solo Austria, la República Checa, Finlandia, Alemania, Italia, Portugal, Polonia, España y Croacia han permitido el uso de cannabis en medicina en la UE, mientras que otros países planean legalizarlo. Como confirmación del difuso estatus legal de Cannabis sativa L. dentro de la comunidad de la UE, se necesitó un juicio de 4 años antes de que el Parlamento danés aprobara el uso de cannabis medicinal para pacientes que sufren diversas enfermedades a partir del 1 de enero de 2018. Además, en 2017, un número creciente de miembros de la UE, como Grecia e Irlanda, anunciaron o propusieron cambios en la legislación y el uso de cannabis medicinal. Desde noviembre de 2017,

Recent Advances in Cannabinoid Research

los medicamentos basados en cannabis en Polonia pueden venderse si se fabrican en farmacias con el uso de una sustancia importada. El estado actual del cannabis pone de relieve que, dado que causa «actividad psicoactiva», su uso en medicina debe seguir las disposiciones legales de los estados miembros, incluido el «control del uso de estupefacientes y sustancias psicotrópicas» [17]. Los países europeos tienen la obligación de controlar el cannabis de acuerdo con las tres Convenciones de las Naciones Unidas sobre el Control de Drogas que les exigen restringir el suministro de drogas y utilizarlo exclusivamente con fines médicos y científicos. A nivel de la UE no existen leyes armonizadas sobre el uso recreativo y medicinal del cannabis y los propios estados miembros deci-

den si legalizarlos. Como ejemplo, el cannabis medicinal en Italia representa una realidad multifacética [16, 18]. En la actualidad, las variedades Bedrocan, Bediol, Bedica y Bedrolite producidas por la empresa Bedrocan de los Países Bajos [19] y la nueva cepa FM2 producida por el Establecimiento Farmacéutico Químico Militar de Florencia, Italia (autorizada en noviembre de 2015 con un Decreto Ministerial) pueden prescribirse para tratar una amplia gama de condiciones patológicas [16]. En relación con esto, las farmacias galénicas italianas están autorizadas a preparar dosis precisas de cannabis para vapeo, infusiones de hierbas, resinas, cápsulas micronizadas y aceites [20]. Este último, preparado utilizando aceite de oliva de la Farmacopea Europea (FU) como disolvente de extracción, ha recibido gran atención debido a la facilidad con la que la dosis puede modularse o titularse durante el período de tratamiento. Además, las formulaciones oleosas son muy valoradas debido a la prolongada biodisponibilidad de los compuestos activos contenidos. En cuanto a la composición de Cannabis sativa, más allá y además de los cannabinoides, se describe una cantidad sustancial de los aproximadamente 500 compuestos (terpenos, flavonoides, estilbenoides, ácidos grasos, alcaloides, carbohidratos y fenoles) [21]. Los terpenos representan el componente volátil de la planta y se ha demostrado que tienen una acción sinérgica con los cannabinoides [19]. Las plantas de cannabis producen y acumulan una resina rica en terpenos en tricomas glandulares, que son abundantes en la superficie de la inflorescencia femenina [22]. Los ramos de diferentes monoterpenos y sesquiterpenos son componentes importantes de la resina de cannabis, ya que definen algunas de las propiedades organolépticas únicas y también pueden influir en las cualidades medicinales de diferentes cepas y variedades de cannabis [23]. Las diferencias entre las propiedades farmacéuticas de diferentes cepas de cannabis se han atribuido a interacciones (o un «efecto séquito») entre cannabinoides y terpenos [24]. Los terpenos mismos exhiben una amplia gama de propiedades farmacológicas, incluida la interacción con el sistema endocannabinoide de los mamíferos: el sesquiterpeno β -cariofileno interactúa con los receptores cannabinoides de los mamíferos [25, 26]. Algunos terpenos como el β -mirceno, el limoneno y el linalol también muestran efectos ansiolíticos, antibacterianos, antiinflamatorios y sedantes [27]. La complejidad química del

cannabis hace que su estandarización farmacéutica sea un desafío y debe incluir metodologías bien definidas que caractericen el quimiotipo de la planta y la droga herbal, así como los procedimientos de extracción. De hecho, se encontró que las concentraciones de cannabinoides objetivo obtenidas para el mismo quimiotipo de planta originario de diferentes proveedores variaron en más del 25% [28]. Esta falta de estandarización podría superarse con dos enfoques distintos. El primero es una cuestión botánica y apunta hacia un control estricto de las variedades y cepas durante el cultivo para asegurar la mayor homogeneidad en las plantas finales, especialmente si el

La inflorescencia de cannabis es el producto final. La otra táctica se centra en los procedimientos de extracción y purificación, que resultan fundamentales si se apunta a formulaciones derivadas del cannabis, como aceites o tinturas. Como revisaron recientemente Citti et al. [29] y Calvi et al. [30], la elección del enfoque o enfoques analíticos empleados representa una tarea crucial, con particular énfasis en la necesidad de una caracterización química exhaustiva de la composición del cannabis y de sus productos derivados. Hoy en día, los métodos analíticos basados en la cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) y/o la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) acoplada al espectrómetro de masas de alta resolución HRMS-Orbitrap, introducido recientemente, representan las técnicas de referencia para la investigación de la composición sumamente compleja del cannabis, debido a su excelente resolución, precisión y sensibilidad. En consecuencia, ahora resulta crucial completar la caracterización química y farmacológica de todos los fitocannabinoides que se sabe están presentes en el cannabis.

Sobre la base de las consideraciones mencionadas, en la primera parte del proyecto de investigación aquí presentado se aplicaron diferentes procedimientos analíticos que implicaban la combinación de microextracción en fase sólida por espacio de cabeza (HS-SPME) acoplada a GC-MS y extracción acelerada con disolventes (ASE) acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (HPLC-Q Orbitrap®) para el perfilado en profundidad y la huella dactilar de cannabinoides y terpenos en variedades autorizadas de grado médico de flos de Cannabis sativa L. (Bediol®) y en la correspondiente preparación de aceite macerado. Se

hizo particular énfasis en el estudio de cannabinoides no dirigidos, a fin de investigar y obtener un perfil exhaustivo y realista de las inflorescencias médicas de Bediol® y de las preparaciones de aceite macerado derivadas, ya que hasta ahora han recibido menos atención en comparación con los compuestos dirigidos (THC, THC-A, CBD, CBD-A). Este enfoque podría aportar nuevos conocimientos también al campo de las aplicaciones analíticas «ómicas».

2. Materiales y métodos

2.1. Productos químicos y reactivos Todos los productos químicos de grado HPLC o analítico procedían de Sigma (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.). El ácido fórmico al 98–100% procedía de Fluka (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.). El agua ultrapura se obtuvo mediante un sistema Milli-Q (Millipore, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). Para el análisis de espacio de cabeza (HS), la fibra de recubrimiento SPME (DVB/CAR/PDMS, 50/30 µm) procedía de Supelco (Bellefonte, PA, EE. UU.). Acetonitrilo, 2-propanol y ácido fórmico de grado LC-MS se adquirieron de Carlo Erba (Milán, Italia). CBD, THC, CBN, CBG, CBNA, THCA y CBGA se adquirieron de Sigma Aldrich (Round Rock, Texas). Se utilizó un molino planetario de alta intensidad Retsch (modelo MM 400, Retsch, GmbH, Retsch-Allee, Haan) para obtener alícuotas representativas del polvo de muestras de flos de cannabis.

2.2. Material vegetal de cannabis y preparación de muestras por molienda superfina (SFG) Se utilizó para todos los análisis el quimiotipo de Cannabis medicinal Bediol®, que contiene 6,5% de THC y 8% de CBD, estandarizado y certificado por la empresa Bedrocan. Se seleccionó como representativo

Recent Advances in Cannabinoid Research

porque representa la variedad médica más común actualmente prescrita sola o en combinación para varias patologías. El polvo superfino de inflorescencia de cannabis se preparó mediante molienda-activación mecánica en un molino vibratorio de alta energía. Diferentes muestras (1,0 g cada una) se molieron en un molino planetario de alta intensidad. El molino vibraba a una frecuencia de 25 Hz durante 1 min, utilizando dos frascos de 50 mL con bolas de acero inoxidable de 20 mm. Antes de su uso, los frascos se preenfriaron con nitrógeno líquido. Las diferencias de velocidad entre las bolas y el frasco dan lugar a la interacción de fuerzas

de fricción e impacto, liberando altas energías dinámicas. La interacción de todas estas fuerzas se traduce en un aporte energético muy eficaz de los molinos planetarios de bolas. La tecnología mecanoquímica se ha desarrollado y adoptado con éxito en diferentes campos (síntesis de polvo superfino, modificación de superficies, aplicaciones farmacológicas y farmacéuticas) y podría representar una novedosa herramienta de investigación.

2.3. Extracción acelerada con disolventes (ASE) para el análisis de cannabinoides

Todas las extracciones para definir el perfil de cannabinoides del quimiotipo médico Bediol® se ejecutaron utilizando un ASE 350 (Thermo-Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.). Para la extracción se utilizaron celdas de acero inoxidable de 34 mL. Se pesaron 100 mg de polvo de flos de Cannabis obtenido mediante SFG y luego se homogeneizaron con un peso igual de tierra de diatomeas y se transfirieron a la celda. A continuación, se añadieron 100 µL de solución de extracción que contenía el IS (diazepam 1 mg mL⁻¹). Se probaron diferentes disolventes de extracción: metanol, metanol:CH₃Cl (9:1), hexano, acetonitrilo y etanol. Se añadieron tierras de diatomeas para rellenar la parte vacía restante de la celda. Para el estudio se utilizaron una temperatura ambiente de 25 °C, presión (1500 psi), número de ciclos estáticos (2 ciclos de 5 min cada uno), tiempo de purga (60 s con nitrógeno) y volumen de enjuague (90%). Los extractos orgánicos se recogieron finalmente en viales de 66 mL y se trataron con sulfato de sodio para eliminar cualquier posible humedad. Posteriormente, el extracto se recogió y se secó al vacío en un evaporador centrífugo. El residuo se disolvió en 1 mL de acetonitrilo y, tras la dilución adecuada, se sometieron 2 µL a análisis mediante HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS. La validación se realizó de acuerdo con las directrices SANTE/2015 de la Unión Europea, habitualmente adoptadas para evaluar el rendimiento de la ASE, especialmente en el análisis de residuos traza [31]. El método se optimizó completamente investigando las tipologías de disolventes de extracción, el número de ciclos de extracción y la temperatura de extracción para definir también las condiciones analíticas óptimas. Para realizar las curvas de calibración ajustadas a la matriz (MMC) se utilizaron muestras en blanco (100 mg de planta oficial previamente analizada por ausencia de cannabinoides) y se fortificaron con una solución estándar apropiada de THC, THC-A, CBD, CBD-A y CBN que cubría el intervalo de

concentración de 0,1 a 10 $\mu\text{g g}^{-1}$. Las recuperaciones se calcularon comparando las concentraciones de los compuestos extraídos con las de las curvas de calibración MMC a dos niveles diferentes de fortificación (1,0 y 10 $\mu\text{g g}^{-1}$). 2.4. Análisis por HS-SPME y GC-MS para la investigación de terpenos Se pesaron un gramo de aceite o 100 mg de inflorescencia previamente molida y se colocaron en viales de vidrio de 20 mL junto con 100 μL del IS (4-nonilfenol, 2000 $\mu\text{g/mL}$ en 2-propanol). Cada vial se equipó con un tapón provisto de un septo de silicona/PTFE (Supelco, Bellefonte, PA, EE. UU.). Se seleccionó una temperatura de 37 °C como temperatura tanto de extracción como de equilibrado

Quality Traits of Medical Cannabis sativa L. Inflorescences and Derived Products Based on Comprehensive...

de acuerdo con investigaciones publicadas previamente, a fin de prevenir posibles alteraciones de la matriz y garantizar la adsorción más eficiente de los compuestos volátiles sobre la fibra SPME [15, 16]. Para mantener constante la temperatura durante el análisis, los viales se mantuvieron en un bloque refrigerante (CTC Analytics, Zwingen, Suiza). Al final del tiempo de equilibrado de la muestra (30 min), se expuso una fibra SPME acondicionada (60 min a 280 °C) al espacio de cabeza de la muestra durante 120 min utilizando un autosampler de inyector Combi-PAL (CTC Analytics, Zwingen, Suiza). Todos los parámetros analíticos ya habían sido validados en nuestra investigación previa [32]. Los análisis se realizaron con un Trace GC Ultra acoplado a un espectrómetro de masas (MS) cuadrupolo Trace DSQII (Thermo-Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) equipado con una columna Rtx-Wax (30 m $\times$ 0,25 mm d.i. $\times$ 0,25 μm de espesor de película) (Restek, Bellefonte, PA, EE. UU.). El programa de temperatura del horno fue: desde 35 °C, mantenido durante 8 min, hasta 60 °C a 4 °C/min, luego de 60 a 160 °C a 6 °C/min y finalmente de 160 a 200 a 20 °C/min. El helio fue el gas portador, a un caudal de 1 mL/min. El arrastre y los picos originados por las fibras se evaluaron regularmente mediante la ejecución de muestras en blanco. Tras cada análisis, las fibras se desorbieron térmicamente de inmediato en el inyector del GC durante 5 min a 250 °C para prevenir la contaminación. El MS se operó en modo de ionización por impacto electrónico (EI) a 70 eV. Se ejecutó una mezcla de alcanos (C8-C22, Sigma

R 8769, Saint Louis, MO, EE. UU.) en las mismas condiciones cromatográficas que las muestras para calcular los índices de retención de Kovats (RI) de los compuestos detectados. Los espectros de masas se obtuvieron utilizando un detector selectivo de masas, un voltaje del multiplicador de 1456 V y recopilando los datos a una velocidad de 1 barrido/s en el intervalo m/z de 35–350. Los compuestos se identificaron comparando los tiempos de retención de los picos cromatográficos con los de compuestos auténticos analizados en las mismas condiciones cuando estaban disponibles, comparando los índices de retención de Kovats con los datos de la literatura y mediante la base de datos de espectros de masas del National Institute of Standards and Technology (NIST). La evaluación cuantitativa se realizó utilizando el procedimiento del estándar interno y los resultados se expresaron finalmente como equivalentes de IS en $\mu\text{g/g}$ o mg/g de cada compuesto volátil. Todos los análisis se hicieron por triplicado.

2.5. Preparaciones de aceite macerado de cannabis

Se realizaron y evaluaron tres métodos diferentes para la preparación del aceite. Las condiciones de preparación se seleccionaron sobre la base de métodos publicados previamente [31]. En resumen, las cuestiones comunes a los tres métodos fueron la cantidad de inflorescencia de Bediol® utilizada (1 g) y el volumen de aceite de oliva de la Farmacopea Europea (FU) (10 mL) que sirvió como matriz de extracción. Las diferencias cruciales en cuanto a la temperatura de precalentamiento de la inflorescencia para realizar el paso de descarboxilación y el proceso de extracción se destacan en la Tabla 1. Tras la extracción y el enfriamiento (métodos 1 y 2), los aceites se filtraron y posteriormente se prepararon para el análisis por LC-Q-Exactive-Orbitrap-MS.

2.6. Análisis de cannabinoides por LC-Q-Exactive-Orbitrap-MS

El perfil de cannabinoides en las plantas y el correspondiente aceite se evaluó aplicando el método publicado recientemente, con particular énfasis en el desarrollo del método [31]. Para realizar el análisis por HPLC-Q-Exactive-Orbitrap®-MS, las muestras extraídas con ASE se prepararon como se indica en la Sección 2.4, mientras que las muestras de aceite se prepararon disolviendo 100 mg de

Método de preparación Romano y Hazekamp [32]

Pacifici et al. [33]

Calvi et al. [30]

(1)

(2)

(3)

Paso de descarboxilación (conversión de la forma ácida en la forma neutra de los cannabinoides)

No

Sí/145 °C, 30 min horno estático

Sí/145 °C, 30 min horno estático

Cantidad de inflorescencia/volumen de aceite FU

1 g:10 mL

1 g:10 mL

1 g:10 mL

Proceso de extracción

Calentamiento en baño de agua (98 °C 120 min)

Calentamiento en baño de agua (98 °C 60 min)

Ultrasonidos (35 KHz 30 min)

Filtración

Sí/papel de filtro

Sí/papel de filtro

Sí/papel de filtro

Tiempo de preparación (min)

Tabla 1. Detalles de los procedimientos de preparación de los aceites macerados de Bediol®.

cada aceite en 10 mL de isopropanol. Tras añadir 1 µg/mL de IS, se diluyeron 10 µL de cada muestra en 890 µL de fase móvil inicial, de la cual se inyectaron 2 µL. La cromatografía se llevó a cabo en un sistema de HPLC (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA) compuesto por una bomba cuaternaria Surveyor MS con desgasificador, un automuestreador Surveyor AS con horno de columna y una válvula Rheodyne con bucle de 20 µL. La separación analítica se realizó utilizando una columna de HPLC de fase inversa de 150 × 2 mm i.d., 4 µm, Synergi Hydro RP, con una precolumna de guarda C18 de 4 × 3 mm i.d. (Phenomenex, Torrance, CA, USA). La fase móvil contenía una combinación binaria de ácido fórmico acuoso al 0,1% y acetonitrilo. El gradiente se inició con 60% de eluyente de ácido fórmico acuoso al 0,1% con un descenso lineal hasta el 95% en 10 min. Esta condición se mantuvo durante 4 min. La fase móvil se devolvió a las condiciones iniciales a los 14 min, seguida de un periodo de reequilibración de 6 min. El caudal fue de 0,3 mL/min. Las temperaturas de la columna y de la muestra fueron de 30 y 5 C, respectivamente. El espectrómetro de masas Thermo Q-Exactive Plus (Thermo Scientific, San Jose, CA, USA) estaba equipado con una fuente de ionización por electrospray calentada (HESI). La temperatura del capilar y la temperatura del vaporizador se fijaron en 330 y 280 C, respectivamente, mientras que el voltaje del electrospray se ajustó a 3,50 kV (operando tanto en modo positivo como negativo). Los gases de envoltura y auxiliar fueron de 35 y 15 unidades arbitrarias, con un nivel de RF de la lente S de 60. El espectrómetro de masas se controló mediante el software Xcalibur 3.0 (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA). La masa exacta de los compuestos se calculó utilizando Qualbrowser en el software Xcalibur 3.0. La FS-dd-MS2 (adquisición dependiente de datos de barrido completo) en modo tanto positivo como negativo se utilizó tanto para fines de cribado como de cuantificación. El poder de resolución de la FS se ajustó a 140.000 FWHM a m/z 200, con un rango de barrido de m/z 215-500. El control automático de ganancia (AGC) se fijó en 3e6, con un tiempo de inyección de 200 ms. Un análisis dirigido de MS/MS (dd-MS2) operó tanto en modo positivo como negativo a 35.000 FWHM (m/z 200). El objetivo de AGC se fijó en 2e5, con el

tiempo máximo de inyección de 100 ms. La fragmentación de los precursores se optimizó como energía de colisión normalizada (NCE) en dos etapas (25 y 40 eV). La detección se basó en la masa exacta calculada de los iones moleculares protonados/deprotonados, al menos un fragmento correspondiente y en el tiempo de retención de los compuestos diana [12]. Los cromatogramas de iones extraídos (EICs) se

Quality Traits of Medical Cannabis sativa L. Inflorescences and Derived Products Based on Comprehensive...

obtuvieron con una precisión de 2 ppm m/z a partir del cromatograma de iones totales (TIC) empleando el m/z correspondiente a los iones moleculares $[M+H]^+$ 315,23145 para CBD y THC, 311,20020 para CBN, 317,24716 para CBG y 311,2024 para CBN. En ESI[−] los iones moleculares $[M-H]^-$ considerados fueron 357,2164 para CBDA y THCA, mientras que el CBGA se detectó mediante 359,22269.

3. Resultados y discusión 3.1. Análisis de calidad de las inflorescencias de Cannabis 3.1.1. Preparaciones de muestras de Cannabis mediante ASE del quimiotipo médico Bediol® La elección del enfoque analítico adecuado para el perfilado de cannabinoides en inflorescencias de cannabis es extremadamente importante, considerando la necesidad de una caracterización química exhaustiva del cannabis y de los productos derivados [34]. Por estas razones, las técnicas analíticas basadas en el espectrómetro de masas de alta resolución (HRMS-Orbitrap), debido a su excelente resolución, precisión y sensibilidad [35], representan hoy en día las técnicas de referencia para la investigación de la composición altamente compleja del cannabis. También debe implementarse una metodología adecuada de purificación y extracción, que se considera crucial para lograr un cribado en profundidad de los cannabinoides en la inflorescencia de Cannabis sativa L. [32, 33]. Los métodos tradicionales de extracción con disolventes empleados a menudo para la extracción de diferentes compuestos bioactivos de las plantas conllevan ciertos inconvenientes [30]. A menudo consumen mucho tiempo, son laboriosos, tienen baja selectividad o bajos rendimientos de extracción y normalmente requieren grandes cantidades de disolventes tóxicos. Actualmente el énfasis se ha desplazado hacia el uso de fluidos sub y supercríticos y de disolventes generalmente reconocidos como seguros (GRAS), como tam-

bién se detalla en otro lugar [34]. Los avances recientes en el uso de sistemas de extracción acelerada con disolventes (ASE), descritos en varias publicaciones [35, 36], incluyen procedimientos para la eliminación selectiva de interferencias durante la extracción de la muestra, combinando así extracción y purificación en una sola etapa. La ASE se considera uno de los procesos de extracción más prometedores porque, a diferencia de los métodos de extracción estándar, utiliza alta temperatura y presión para mejorar la extracción del analito de la muestra sólida. Estas condiciones favorecen la difusión del disolvente de extracción a través de la matriz de la muestra, lo que da como resultado una disolución y recuperación más completas de los compuestos investigados. La muestra que se va a extraer se coloca en una celda metálica sellada que luego se dispone automáticamente en una cámara de horno calentada y se llena con el disolvente de extracción. La celda de extracción se presuriza entonces, permitiendo un aumento del punto de ebullición del disolvente de extracción y la solubilización de los analitos a una temperatura superior a la que sería posible a presión atmosférica. A continuación, la muestra se extrae y se recoge mediante el llenado y vaciado automatizados de la celda a través de ciclos estáticos repetidos. En comparación con otras técnicas de extracción de muestras sólidas, la ASE requiere menos tiempo, consume menos disolvente durante la extracción y, con el beneficio añadido de la automatización, ha demostrado ser eficaz para varias muestras sólidas alimentarias. Ya se ha evaluado el rendimiento de la ASE para la extracción de compuestos naturales como curcuminoides, saponinas, flavonolignanos, terpenos, taxanos, xantonas, flavonoides y artemisinina, así como la aplicación de la ASE para la caracterización de compuestos fenólicos

Recent Advances in Cannabinoid Research

de raíces finas de plantas alpinas [37]. La ventaja de aplicar presión se debe a que es capaz de forzar el disolvente de extracción hacia el interior de la matriz y, por tanto, puede mejorar drásticamente la eficiencia de la extracción. Según nuestro conocimiento, el presente estudio informa por primera vez de un método basado en ASE aplicado a la extracción de cannabinoides a partir de materia prima de cannabis (inflorescencias). El quimiotipo Beñiol® se eligió para la optimización

de los parámetros de trabajo de la ASE, ya que comprende una combinación de cantidades equilibradas de THC y CBD, dos cannabinoides responsables de la mayor parte de los efectos clínicos que puede expresar el cannabis medicinal. Además, se ha sugerido repetidamente que el efecto del THC aislado o de cualquier otro cannabinoide individual no es equivalente al de las preparaciones de cannabis completo, ya que parte de la bioactividad observada podría estar relacionada también con la presencia de cannabinoides ácidos. En este contexto, el uso de un método analítico que permita la extracción exhaustiva cualitativa y cuantitativa de cannabinoides neutros y de sus formas ácidas nativas (THCA y CBDA) de la planta de cannabis es fundamental para caracterizar las diferentes variedades de cannabis, un punto particularmente relevante cuando se consideran las variedades medicinales. Por ello, la eficacia de extracción de la ASE se evaluó también para THCA y CBDA. Sin embargo, la optimización de una extracción eficaz de la planta de cannabis es una cuestión estratégica y muy importante en la determinación de cannabinoides, ya que determina la exactitud de todo el método analítico. Por lo tanto, aquí se evaluaron varios disolventes de extracción para la extracción mediante ASE de cannabinoides del quimiotipo Bediol®. La mejor combinación en términos de área relativa (área analito/IS) se obtuvo utilizando metanol como disolvente de extracción a temperatura ambiente y 2 ciclos de extracción de 5 min cada uno, con un tiempo total de extracción resultante de 15 min (Figura 1). Estos resultados concuerdan con un estudio reciente que investigó el uso de diferentes métodos de extracción (maceración dinámica, ultrasonidos, microondas y extracción con fluidos supercríticos) para el análisis de cannabinoides de variedades de cannabis de tipo fibra [38]. Las recuperaciones calculadas comparando las concentraciones de los compuestos extraídos con las de las curvas de calibración MMC a dos niveles de fortificación diferentes mostraron una recuperación media del 93 y 5,7% como coeficiente de variación. A partir de las curvas de calibración MMC obtenidas, utilizadas para la validación de los procedimientos de ASE, el porcentaje de THC, THCA, CBD y CBDA en la inflorescencia de Bediol® mediante análisis LC-Q-Exactive-Orbitrap-MS se calculó en: 0,88, 5,7, 0,96 y 7,4%, respectivamente.

3.1.2. HS-SPME y GC-MS para la huella de terpenos del quimiotipo médico Bediol®

En comparación con los deriva-

dos cannabinoides, los constituyentes volátiles de *Cannabis sativa* L. han recibido mucha menos atención. En la actualidad, se ha prestado escaso énfasis a la caracterización exhaustiva del perfil de terpenos obtenido de quimiotipos de *Cannabis* estandarizados y certificados para uso médico [18, 27]. En relación con la evidencia reciente sobre el papel sinérgico de terpenos y cannabinoides (efecto séquito) [21], la evaluación integral de los compuestos terpénicos que caracterizan especialmente a las cepas medicinales es hoy en día crucial para gestionar correctamente el *Cannabis* como herramienta terapéutica completa. Además, varias aplicaciones médicas de la flos de *Cannabis* implican la vaporización de la inflorescencia utilizando equipos médicos de vapeo para calentar la hierba, liberando así tanto cannabinoides como terpenos a la fase vapor. La necesidad

Quality Traits of Medical *Cannabis sativa* L. Inflorescences and Derived Products Based on Comprehensive...

Figura 1. Impacto de los disolventes de extracción, la temperatura y el número de ciclos de extracción sobre la extractabilidad de los cannabinoides mediante extracción acelerada con disolventes (ASE) del quimiotipo Bediol®.

de comprender el perfil real de terpenos emitido por las variedades medicinales para seleccionar las variedades más apropiadas para uso terapéutico es particularmente evidente. En el presente estudio, se adoptó un método HS-SPME para la preconcentración de los compuestos volátiles con especial atención a la fracción de terpenos (mono-di-tri terpenos y sesquiterpenos). La HS-SPME se considera una técnica analítica de referencia para el análisis de compuestos volátiles en general (ref), pero se dispone de escasos datos sobre la aplicación de la HS-SPME en el análisis de terpenos y, en general, del perfil volátil de variedades de cannabis medicinal. No obstante, un estudio publicado recientemente demuestra la conveniencia de la HS-SPME en la caracterización del perfil de terpenos del hachís [35]. En particular, mediante la HS-SPME, los autores pudieron aislar e identificar un potencial marcador volátil que podría servir como sustancia mediante la cual discriminar la resina del material vegetal

Los volátiles de algunas variedades de Bedrocan® han sido investigados previamente en cuanto a su contenido de terpenos mediante GC-FID [29], una técnica que proporciona solo un perfil volátil parcial y está severamente limitada, ya que no permite la identificación de volátiles desconocidos, como sí es factible con equipos GC-MS acompañados de bibliotecas de espectros de masas adecuadas y actualizadas [31, 40]. Además, los terpenos se extrajeron utilizando etanol como disolvente de extracción [29] y luego se cuantificaron utilizando una curva de calibración construida con un patrón interno genérico. Este enfoque suele ser limitativo, ya que la polaridad del disolvente podría influir drásticamente en el perfil de terpenos obtenido y llevar como resultado a la subestimación de la compleja mezcla de metabolitos secundarios emitidos por las plantas [40]. Los métodos que implican el muestreo del espacio de cabeza parecen ser la opción más oportuna para investigar el perfil volátil del cannabis, a fin de obtener un perfil representativo de sus constituyentes volátiles evitando las interferencias que potencialmente aportan los cannabinoides predominantes en el cromatograma resultante [41]. Vale la pena mencionar que la familia de los terpenos incluye una gran variedad de compuestos (mono-di-tri y sesquiterpenos) con pronunciadas diferencias químicas que, en consecuencia, agravan las disemejanzas en términos de efectos clínicos potenciales. Fue posible identificar más de 40 monoterpenos en el quimiotipo médico Bediol® utilizando la HS-SPME y GC-MS optimizadas. Los más representativos se presentan en la Figura 2. Como consideración general, el β -mirceno fue el terpeno predominante en el quimiotipo Bediol®, como se había informado previamente [22, 29, 41]. Además, este es un hallazgo extremadamente importante, ya que este monoterpeno demuestra un prominente efecto de tipo narcótico que aparentemente es responsable del fenómeno del «couch lock» frecuentemente asociado a la fenomenología del cannabis moderno [24]. Asimismo, otros cinco monoterpenos, a saber, α -terpinoleno, β -ocimeno, β -felandreno, α - y β -pineno, son los principales monoterpenos en el quimiotipo Bediol®, como se reveló para otras variedades de *Cannabis sativa* L. [42]. Curiosamente, nuestro análisis reveló la presencia de limoneno (930 $\mu\text{g/g}$), que

Figura 2. Fracción representativa de terpenos extraída del quimiotipo Bediol® mediante HS-SPME e identificada usando GC-MS ($\mu\text{g/g}$).

Quality Traits of Medical Cannabis sativa L. Inflorescences and Derived Products Based on Comprehensive...

es contrario a los datos publicados previamente para la inflorescencia de Bediol® [29]. Este hallazgo es notable porque el quimiotipo de Bediol® se obtiene hibridando la variedad Bedrocan (alto contenido de THC) con variedades predominantes en CBD. Aunque los mecanismos subyacentes a la regulación de la síntesis de terpenos en las plantas de cannabis aún deben dilucidarse, es posible que el fitomejoramiento selectivo e individual pueda influir en los perfiles de proporción de terpenos [22]. Además de la composición química de la fracción de terpenos de la inflorescencia de Bediol® que se documenta exhaustivamente en este trabajo, también se investigó en detalle la fracción de sesquiterpenos (Figura 3). Este flos era particularmente rico en trans-cariofileno, típico de la mayoría de las variedades de Cannabis sativa L. [19, 41, 42], pero la cantidad significativa de selina-3,7(11)-diona podría ser más específica del quimiotipo Bediol®. Además, mediante espectrometría de masas fue posible identificar un compuesto con estructura de sesquiterpeno que no corresponde a ninguna sustancia conocida de esta clase. Considerando su abundancia, es obligatorio un examen profundo de este compuesto «nuevo» y desconocido, ya que podría utilizarse como marcador específico de Bediol®. Asimismo, este quimiotipo era principalmente rico en ésteres, compuestos volátiles responsables de las notas de sabor «afrutado» y asociados a ellas (Figura 4). El éster más abundante encontrado es el éster hexílico del ácido butanoico, reconocido por su sabor dulce, a manzana y a piel de manzana [43]. Su dominancia en el perfil de ésteres de Bediol® postula a este compuesto como la principal sustancia aromatizante natural para este quimiotipo de Cannabis sativa L.

3.2. Análisis de calidad de las formulaciones de aceite de Bediol®: cannabinoides y perfil de COV

En línea con la aprobación por parte del Ministerio de Salud italiano de un decreto que regula el cultivo, procesamiento y usos terapéuticos del Cannabis [16], ha habido una creciente demanda de extractos de aceite medicinal obtenidos de las flores secas

[43]. Por lo tanto, también se requiere un protocolo estandarizado para las preparaciones oleosas, pero hasta ahora no se ha formulado. En este

Figura 3. Fracción representativa de sesquiterpenos extraída del quimiotipo Bediol® mediante HS-SPME e identificada mediante GC-MS ($\mu\text{g/g}$).

Recent Advances in Cannabinoid Research

Figura 4. Fracción de ésteres extraída del quimiotipo Bediol® mediante HS-SPME e identificada mediante GC-MS ($\mu\text{g/g}$).

contexto, la extracción de cannabis se realizó utilizando aceite de oliva y un «flos» de cannabis medicinal estandarizado (de acuerdo con los estándares farmacéuticos) [31, 34, 39, 44, 45]. Recientemente se ha empleado el análisis basado en HPLC-MS/MS para el análisis de cannabinoides en materiales vegetales, extractos y matrices biológicas [8, 29, 45]. Esta técnica de detección ha demostrado ser particularmente fiable, ya que no existe riesgo de descomposición de los cannabinoides nativos (descarboxilación de los ácidos cannabinoides durante el análisis), lo que podría comprometer la evaluación precisa del perfil global de cannabinoides. Actualmente, los analizadores más utilizados para la cuantificación de cannabinoides son los instrumentos de triple cuadrupolo, que poseen una excelente sensibilidad y selectividad [31, 46]. Sin embargo, no permiten la identificación estructural de compuestos «no diana». En este sentido, los analizadores de alta resolución y masa exacta (HRMS), como el Q-Exactive-Orbitrap-MS, ofrecen la posibilidad de operar generando un análisis cualitativo «en profundidad» de miles de compuestos en matrices biológicas, ambientales o alimentarias complejas, proporcionando información más allá de lo que actualmente es alcanzable con la instrumentación clásica de espectrometría de masas. La tecnología de espectrometría de masas Orbitrap se está desarrollando rápidamente también para el perfilado de cannabinoides en diferentes matrices, porque proporciona de manera única masas moleculares exactas y patrones de fragmentación específicos para las especies detectadas. Además, el modo de adquisición HRMS acumula todos los datos de la muestra, lo que permite la identificación de compuestos «no previstos» con estructura cannabinólica y el análisis retrospectivo de datos sin ne-

cesidad de volver a analizar las muestras. Como ejemplo, se reportó la identificación simultánea de 24 cannabinoides sintéticos y naturales para una amplia variedad de muestras, como material vegetal de cannabis herbal, mediante Orbitrap [3]. Además, nuestro grupo de investigación también ha publicado recientemente resultados relativos a un método HPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS para la determinación de los siete cannabinoides más importantes, incluidos cuatro cannabinoides esenciales (THC, CBD, THCA y CBDA), acompañados de la cuantificación de

Quality Traits of Medical Cannabis sativa L. Inflorescences and Derived Products Based on Comprehensive...

CBN, CBG y CBGA [30]. Aplicando este método, pudimos determinar el perfil de cannabinoides en aceites del quimiotipo Bediol® preparados mediante tres métodos diferentes, como se describe en la sección de materiales y métodos. El método 3 (realizado aplicando una extracción asistida por precalentamiento/ultrasonidos) mostró los mayores rendimientos de extracción de los cannabinoides neutros CBD y THC. En contraste, el método 1 proporcionó las concentraciones máximas de THCA, CBDA y CBGA, ya que no se incluyó una etapa de precalentamiento. Actualmente, es importante enfatizar que, en el campo de los usos terapéuticos de los cannabinoides relacionados con efectos farmacológicos y clínicos, el THC y el CBD en sus formas neutras son de interés primordial, aunque existe una atención creciente hacia las formas ácidas (Tabla 2) [3]. Además, aparte de los compuestos diana revelados, también se detectaron varios otros cannabinoides no dirigidos. El análisis HRMS ha demostrado ser muy útil también en la evaluación retrospectiva de cannabinoides isómeros no dirigidos. La interpretación estructural de los compuestos no dirigidos se realizó a partir de los espectros de masas recogidos en el modo de exploración FS y el correspondiente dd-MS², y se basó en la información encontrada en la literatura [30, 45, 46, 47, 49] y en las bibliotecas de espectros de masas [48]. En este sentido, el analizador Q-Exactive-Orbitrap-MS se utiliza a menudo para obtener información estructural de los compuestos detectados, ya que proporciona una identificación de masa exacta tanto para los iones precursores como para los productos. Entre las moléculas no dirigidas, verificamos la presencia de THCV³⁹ y CBDV, que expresaban el mismo

comportamiento de fragmentación que sus equivalentes C5, pero diferían en los fragmentos que contenían la cadena lateral C3 [30]. La presencia y cuantificación adicional de esos dos compuestos parece ser esencial, ya que se reveló que en tres modelos de convulsiones, las «sustancias farmacológicas botánicas» derivadas del cannabis ricas en CBDV y CBD ejercieron efectos anticonvulsivos significativos que no estaban mediados por el receptor CB1 y eran de eficacia comparable al CBDV purificado [50]. Por otro lado, es bien sabido que el THCV (también como el THC) se une a los receptores CB1 y CB2 y actúa como un agonista cannabinomimético [50, 51]. Por lo tanto, la potencia farmacológica del CBDV y el THCV es sustancial y, independientemente de sus cantidades relativamente pequeñas en las preparaciones oleosas, pueden contribuir a la eficiencia fisiológica del perfil global de cannabinoides [18], al menos en lo que respecta a la preparación oleosa de Bediol®. Además, en las muestras de extracto oleoso de Bediol® en modo de adquisición negativa de exploración completa se observaron al menos cuatro cannabinoides diferentes con los mismos iones moleculares (m/z 343.1915) pero diferentes tiempos de retención (Figura 5). Su aparición e intensidad varían según el método de preparación utilizado. El patrón de fragmentación de los picos en el tiempo de retención (RT) 9.91 y 12.24 min corresponde al ácido tetrahidrocannabinólico—C4 (THCA-C4) y al ácido cannabidiólico—C4 (CBDA-C4). Esos dos

THC

CBD

CBN

CBG

THC-A

CBD-A

CBG-A

1 [32]

370 23

2010 56

10 0.5

7 0.8

8300 507

14,120 1002

260 23

2 [33]

4520 102

5503 89

56 7

125 21

1808 201

1208 750

114 15

3 [30]

5214 87

7304 108

47 4

102 12

487 42

29 0.75

18 6

Tabla 2. Análisis cuantitativo de los principales cannabinoides de las preparaciones oleosas maceradas de Bediol® obtenidas mediante tres procedimientos de preparación diferentes ($\mu\text{g/g}$, media SD, $n = 3$).

Recent Advances in Cannabinoid Research

Figura 5. Cromatogramas de iones extraídos del análisis retrospectivo de datos que apuntan a la presencia de CBDA-C₄; THCA-C₄ y CBCA-C₄.

ácidos son respectivamente homólogos de los ácidos principales (THCA y CBDA) de los que difieren solo en la cadena lateral butílica (en lugar de pentílica). Además, la presencia del pico 10.31 y su perfil de fragmentación indican la presencia de ácido cannabicroménico C₄ (CBCA-C₄). De manera completamente análoga, los cromatogramas de iones extraídos para m/z 329.17580 confirman la aparición de THCVA y CBDVA, los precursores ácidos de los mencionados THCV y CBDV, solo para las muestras de aceite de los métodos 1 y 2 (Figura 6). Adicionalmente, el extracto oleoso obtenido mediante el método de extracción 3 reveló la presencia de ácido cannabicromovarínico (CBCVA). Este compuesto, al igual que su contraparte neutra cannabicromovarina CBCV, no cuenta con un trabajo de investigación adecuado para comprender plenamente su eventual comportamiento farmacológico y fisiológico distintivo. Sin embargo, el hecho de que el método de extracción 3 (precalentamiento/ultrasonidos) transfiera este compuesto de la inflorescencia al aceite medicinal debe tenerse en cuenta, especialmente cuando las señales de THCVA y CBDVA estaban prácticamente ausentes en el extracto 3. Esto se debe muy probablemente a la diferente cinética de extracción realizada por ultrasonidos que preserva la estructura benzopiránica del CBCVA. En conjunto, nuestro análisis retrospectivo del aceite medicinal de Bediol® proporciona evidencia clara de la necesidad de desarrollar un procedimiento estandarizado para la extracción, especialmente en términos de tiempo y método de extracción, ya que afectan inequívocamente la composición química del producto final, influyendo así en el efecto farmacológico de la preparación medicinal que finalmente se dispensa a los pacientes. En lo que respecta al perfil de COV, los tres métodos de preparación extrajeron cantidades sustanciales de terpenos, asemejándose al perfil obtenido para la inflorescencia

de Bediol®. Comparando los tres métodos de preparación diferentes, se puede observar que el método 1 extrajo la mayor

Quality Traits of Medical Cannabis sativa L. Inflorescences and Derived Products Based on Comprehensive...

Figura 6. Cromatogramas de iones extraídos del análisis retrospectivo de datos que apuntan a la presencia de CBDVA; THCVA y CBCVA.

cantidad de terpenos, seguido de los métodos 3 y 2 (Tabla 3). Esto era predecible, ya que el método 1 no incluía precalentamiento para la descarboxilación, por lo que la fracción de terpenos se conservó con un evidente dominio del β -mirceno. Aunque el precalentamiento del material vegetal liberó más de los conocidos cannabinoides neutros activos, simultáneamente condujo a la pérdida de componentes como los terpenos por degradación o evaporación. En cuanto a los productos de oxidación lipídica, se mostró la tendencia opuesta entre los tres procedimientos de preparación. En particular, el método 3, realizado sin ninguna etapa de calentamiento, mostró concentraciones menores de productos de oxidación lipídica. El aceite macerado obtenido utilizando el método de Romano-Hazekamp (método 1) contenía los niveles más altos de productos de oxidación, en comparación con los otros dos procedimientos, como era de esperar. Esto puede relacionarse con las condiciones de preparación en las que el aceite se calienta a 98 C durante 120 min. Los datos relativos a la formación de productos de oxidación lipídica en preparaciones de aceite medicinal de cannabis son extremadamente limitados [30]. La aparición de aldehídos en la muestra obtenida por el método 1 indica el inicio de la peroxidación lipídica de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de los aceites utilizados como matriz [52, 53]. Está bien documentado que la peroxidación de los PUFA conduce a la formación de una serie bien definida de aldehídos y cetonas como el nonenal, hexanal y pentanal, 2-heptenal [54]. La velocidad de formación de los productos de oxidación lipídica depende estrechamente de varios factores, entre los cuales los más importantes son: la temperatura de preparación del método, la composición de ácidos grasos del aceite en el que se disuelve el extracto de cannabis y las condiciones de almacenamiento [55]. Estos parámetros son cruciales para definir las características finales de los productos finales que se utilizarán para el tratamiento médico.

Finalmente, la presencia de 2-furancarboxaldehído en la muestra de aceite obtenida por el método 1 confirmó que el precalentamiento inicia la serie de reacciones que conduce a la formación de compuestos potencialmente tóxicos.

Recent Advances in Cannabinoid Research

Clase/nombre del compuesto

Método de preparación 1 [32]

2 [33]

3 [30]

Alcoholes 1-Hexanol

31.10 2.8

15 1.3

13.15 2.12

3-Hexen-1-ol

1.10 0.14

0.56 0.12

0.7 0.1

2-Etil-1-hexanol

0.22 0.03

n.d.

n.d.

3,3,6-Trimetil-1,5-heptadien-4-ol

13.1 0.5

7.3 1.93

5.3 0.45

α -Toluenol

0.16 0.03

0.10 0.02

0.08 0.02

2-Metil-butanal

0.42 0.05

n.d.

n.d.

3-Metil-butanal

0.26 0.03

n.d.

n.d.

Hexanal

1.51 0.13

n.d.

n.d.

Heptanal

1.06 0.29

n.d.

n.d.

2-Hexenal

1.90 0.22

n.d.

n.d.

Octanal

0.54 0.09

0.36 0.01

0.04 0.02

6-Metil-5 hepten-2 ona

1.8 0.15

0.98 0.14

0.28 0.08

3-Metil-3-ciclohexen-1-ona

3.01 0.67

0.58 0.14

0.19 0.05

Éster metílico del ácido acético

0.41 0.09

n.d.

n.d.

Acetato de 3-hexen-1-ol

0.51 0.02

0.22 0.03

0.18 0.01

Aldehídos

Cetonas

Ésteres

Éster hexílico del ácido propanoico ⁴⁵

1.84 0.01

0.99 0.17

0.90 0.1

Éster 2-metilhexílico del ácido propanoico

2.47 0.01

1.55 0.25

1.70 0.09

Éster hexílico del ácido butanoico

21.01 0.21

10.80 2.72

16 0.82

Éster hexílico del ácido hexanoico

1.78 0.54

1.23 0.28

1.43 0.22

Éster 2-amino-metílico del ácido benzoico

0.55 0.04

0.53 0.16

0.53 0.04

α -Pino

109 1.4

12.37 2.54

29.0 0.39

α -Tujeno

5.41 0.45

2.12 0.34

2.71 0.11

Mono/di/triterpenos

Canfeno

2.27 0.15

0.67 0.09

0.30 0.01

β -Pineno

55.04 7.0

14.57 1.54

17.20 0.67

Sabineno

1.82 0.14

0.2 0.07

n.d.

δ -3-Careno

18.4 1.93

6.62 0.90

7.44 0.13

α -Felandreno

19.00 2.21

10.67 1.93

5.57 0.51

β-Mirceno

1074.2 30

227.77 35.1

458.0 2.74

α-Terpineno

13.90 1.27

10.20 1045

16.56 1.14

Limoneno

32.4 4.13

14.39 1.75

18.17 1.38

Quality Traits of Medical Cannabis sativa L. Inflorescences and Derived Products Based on Comprehensive...

Clase/nombre del compuesto

Eucaliptol

Método de preparación 1 [32]

2 [33]

3 [30]

5.2 0.58

3.14 0.76

4.84 0.46

β-Felandreno

52.00 7.57

27.25 4.37

35.83 1.57

Cis-ocimeno

2.70 0.20

1.47 0.24

0.72 0.11

γ -Terpineno

13.87 1.13

14 2.36

8.50 0.48

β -Ocimeno

107.22 6

49.0 6.7

64.88 1.15

p-Cimeno

11.86 1.11

6.7 0.63

4.7 0.49

α -Terpinoleno

253.3 20.9

157.78 19.46

197.14 1.08

1,3,8-p-Mentatrienos

0.63 0.01

0.37 0.03

0.27 0.04

p-Cimenilo

6.3 0.18

6.84 1.46

8.07 0.33

Isomentona

n.d.

0.16 0.02

0.57 0.08

4,8-Epoxy-p-ment-1-eno

12.11 0.12

4.57 1.01

2.80 0.27

β -Linalol

0.89 0.05

0.83 0.19

0.66 0.05

p-Ment-2-en-1-ol

0.42 0.05

n.d.

n.d.

4-Terpineol

2.60 0.01

2.65 0.78

2.61 0.18

Verbenol

2.41 0.13

1.56 0.63

2.21 0.08

1,8-Mentadien-4-ol

7.00 0.32

5.34 1.55

6.15 0.25

α -Terpineol

4.66 0.15

3.63 1.15

3.45 0.20

Borneol

1.07 0.16

0.89 0.26

0.77 0.02

p-Ment-1-en-3-ol

0.85 0.03

0.39 0.06

0.25 0.03

Trans-3-careen-2-ol

1.00 0.05

0.64 0.11

0.52 0.04

Cuminol

4.60 0.36

3.42 0.66

4.29 0.23

0.94 0.16

0.61 0.08

0.57 0.06

Sesquiterpenos α -Santaleno α -Bergamoteno

4.66 1.03

3.17 0.63

4.28 0.83

α -Guaïeno

8.94 2.17

6.97 1.14

7.05 1.93

Trans-cariofileno

27.64 4.78

20.60 3.11

21.07 3.13

α -Humuleno

10.62 2.35

7.11 1.39

8.00 1.73

δ -Guaieno

7.50 2.11

5.84 0.94

5.90 1.41

β -Selineno

1.15 0.26

0.83 0.11

0.90 0.29

α -Selineno

1.78 0.07

1.07 0.11

1.90 0.45

α -Farneseno

0.63 0.20

0.42 0.06

0.54 0.16

Selina-3,7(11)-dieno

7.40 2.30

5.60 0.78

6.65 1.93

Nerolidol

0.37 0.08

0.35 0.11

0.46 0.18

0.32 0.05

n.d.

n.d.

Furanos 2-Furancarboxaldehído

Recent Advances in Cannabinoid Research

Clase/nombre del compuesto

Método de preparación 1 [32]

2 [33]

3 [30]

Dihidro-2(3H)-furanona

0.24 0.06

0.16

n.d.

5-Etil-2(5H)-furanona

0.32 0.04

0.27 0.03

n.d.

Sulfuro de dimetilo

0.63 0.12

n.d.

n.d.

Metil-pirazina

n.d.

n.d.

n.d.

Misceláneos

2,5-Dimetil-pirazina

n.d.

0.22 0.07

0.16 0.09

Dibutilformamida

n.d.

n.d.

n.d.

Acetilpirrol

0.32 0.07

0.41 0.05

0.38 0.06

Los datos se expresan en $\mu\text{g/g}$ (valor medio SD, $n = 3$). Tabla 3. Compuestos volátiles extraídos e identificados mediante HS-SPME-GC/MS en aceite Bediol® obtenido mediante diferentes métodos de preparación.

4. Conclusiones En este estudio, se aplicó un protocolo analítico que combina HS-SPME acoplado a GC-MS y ASE acoplado a HPLC-HRMS (Orbitrap®) para la caracterización en profundidad y la huella dactilar de cannabinoides y terpenos en una variedad autorizada de grado médico de Cannabis sativa L. (Bediol®). Se demostró que HS-SPME es una técnica excelente para investigar tanto la composición volátil de la inflorescencia de cannabis como la del aceite macerado derivado. En particular, la extracción mediante HS-SPME proporciona un perfil preciso en relación con la huella plausible de terpenos de diferentes quimiotipos de

cannabis, como se presenta en este estudio. LC-HRMS-Orbitrap, utilizada para investigar los cannabinoides extraídos de inflorescencias y aceites macerados, mostró prestaciones de alto rendimiento, ya que puede emplearse tanto para la cuantificación de analitos diana como para investigar la fracción no dirigida y obtener así un perfil muy complejo como expresión del fitocomplejo vegetal al mismo tiempo. Estos enfoques son hoy en día esenciales y fundamentales para comprender la composición de los quimiotipos de *Cannabis sativa* utilizados actualmente por su papel en el manejo terapéutico, ya que son capaces de proporcionar información exhaustiva esencial para correlacionar después las características fitoquímicas del cannabis y los resultados clínicos obtenidos cuando se maneja y administra a los pacientes.

Agradecimientos El presente estudio se llevó a cabo de acuerdo con la autorización concedida al Dr. Lorenzo Calvi por el Ministero della Salute (SP/065, número de protocolo) para el suministro y la tenencia de estupefacientes

Quality Traits of Medical Cannabis sativa L. Inflorescences and Derived Products Based on Comprehensive...

y/o sustancias psicotrópicas con fines científicos. El presente trabajo está parcialmente financiado y realizado en el marco del proyecto ITALIAN MOUNTAIN LAB, Ricerca e Innovazione per l'ambiente ed. i Territori di Montagna—Progetto FISR Fondo integrativo speciale per la ricerca.

Datos de los autores Lorenzo Calvi¹, Radmila Pavlovic^{1,2}, Sara Panseri³, *Luca Giupponi*^{1,2}, *Valeria Leoni*^{1,2} y *Annamaria Giorgi*^{1,2} Dirección para toda la correspondencia: sara.panseri@unimi.it ¹ Department of Agricultural and Environmental Sciences—Production, Landscape, Agroenergy, Università degli Studi di Milano, Milán, Italia ² CRC-Ge.S.-Di.Mont.—Centre for Applied Studies in the Sustainable Management and Protection of the Mountain Environment, CRC-Ge.S.Di.Mont—Università degli Studi di Milano, Brescia, Italia ³ Department of Health, Animal Science and Food Safety, Università degli Studi di Milano, Milán, Italia

EL CANNABIS Y EL CEREBRO: ¿AMIGO O ENEMIGO?

Ali E. Dabiri y Ghassan S. Kassab · 2023 Publicado originalmente en *Cannabinoids – Recent Perspectives and Applications in Human Health* (IntechOpen, ed. James). DOI: [10.5772/intechopen.106669] (<https://doi.org/10.5772/intechopen.106669>) · Licencia CC BY 3.0 Título original: *Cannabis and the Brain: Friend or Foe?*

RESUMEN

La legalización del cannabis en los Estados Unidos y otros países pone de relieve la necesidad de comprender las consecuencias sanitarias de este consumo de sustancias. La investigación indica que algunos componentes del cannabis pueden desempeñar un papel beneficioso en el tratamiento de diversas afecciones médicas, mientras que otros ingredientes pueden entrañar riesgos para la salud. Esta revisión se centra en los efectos del consumo de cannabis sobre el cerebro y la salud mental. La razón para examinar el consumo de cannabis en las afecciones conductuales y neurales es que estas afecciones están muy extendidas en los Estados Unidos y representan un elevado nivel de atención sanitaria médica y de costes asociados. El propósito de esta revisión es ofrecer una visión general de los conocidos beneficios medicinales de determinados cannabinoides del cannabis en afecciones como la epilepsia pediátrica, el trastorno por déficit de atención e hiperactividad, el trastorno del espectro autista, y de los conocidos efectos secundarios o contraindicaciones en afecciones como la adicción, la cognición y la psicosis. Se formulan varias recomendaciones en cuanto a los estudios que ayudarán a comprender mejor el papel creciente del cannabis en la salud y la enfermedad neuropsiquiátricas.

Palabras clave: cognitivo, marihuana, cannabinoides sintéticos, sustancia ilícita, adicción

La legalización del cannabis en los Estados Unidos y otros países, junto con el aumento de los diversos métodos de consumo, hace vital comprender las consecuencias sanitarias asociadas. Según un informe de Grand View Research [1], se espera que el tamaño del mercado legal mundial del cannabis alcance los 84.000 millones de dólares a finales de 2028. Según el informe, se espera que el mercado del cannabis se expanda a una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) del 14% de 2021 a 2028. Una encuesta de Gallup indica que el apoyo de los estadounidenses a la legalización de la marihuana se situó en torno al 66% en 2018, lo que representa un aumento del 30% entre 2005 y 2018 [2]. En una encuesta de Gallup de 2019, el 13% de los adultos estadounidenses declaró fumar cannabis, un porcentaje que era casi el doble del declarado tres años antes [3]. Alrededor del 43% de los adultos de los Estados Unidos declaró haber probado el cannabis en 2019, el 44% en 2018, el 38% en 2013 y el 4% en 1969 [3].

La primera evidencia de los efectos medicinales del cannabis se remonta a la medicina china en los siglos I y II a. C. [4]. Los efectos perjudiciales del cannabis sobre la salud mental fueron descritos por primera vez por el médico Iban Beitar entre los siglos XII y XIII [5]. Posteriormente, en 1845, el psiquiatra francés Jacque-Joseph Moreau describió tales efectos como reacciones psicóticas agudas que podían durar desde unas pocas horas hasta una semana. Identificó que la reacción dependía de la dosis, y sus principales características eran ilusiones, alucinaciones, delirios, confusión e inquietud; y una posible desorientación y pérdida de conciencia [6]. Tales evidencias sugerían un posible papel del cannabis en la fisiopatología de la psicosis y otros trastornos mentales, como confirmaron posteriormente estudios realizados durante los últimos 50 años [7–9].

La legalización del cannabis medicinal y recreativo ha incentivado al consumidor a desarrollar nuevas formas de consumo de cannabis. Los métodos han sido descritos en una publicación reciente de los autores [10].

Aquí ofrecemos una visión general de los conocidos beneficios medicinales de determinados cannabinoides del cannabis, de los conocidos efectos secundarios o contraindicaciones, y señalamos las numerosas

incógnitas del consumo de cannabis sobre el cerebro. Proponemos nuevas investigaciones sobre el cannabis para responder a las preguntas de por qué el cannabis puede ser a la vez un amigo y un enemigo, y descubrir beneficios medicinales adicionales e identificar los peligros para la salud con especial atención al cerebro y a la salud mental.

1.1 Informe de las academias nacionales de ciencias

Se formó un comité sobre los Efectos del consumo de cannabis en la Salud en las Academias Nacionales de Ciencias (NAS), Ingeniería y Medicina para revisar exhaustivamente la literatura científica e identificar las lagunas de investigación. El comité estaba formado por 16 expertos en las áreas de adicción al cannabis, oncología, cardiología, neurodesarrollo, enfermedades respiratorias, salud pediátrica y adolescente, inmunología, toxicología, investigación preclínica, epidemiología, revisión sistemática y salud pública. Dada la vasta cantidad de literatura científica sobre el cannabis, el comité decidió utilizar revisiones sistemáticas publicadas (desde 2011) e investigación primaria de alta calidad para 11 áreas, incluidas las afecciones cerebrales y de salud mental. El informe se publicó en enero de 2017 [11]. El comité de las NAS resumió el efecto del cannabis sobre el cerebro y la salud mental en la literatura publicada desde 1999 [11]. Las limitaciones de los estudios revisados incluían la falta de datos sobre los diferentes métodos de consumo de cannabis (por ejemplo, fumado, ingerido, etc.), información inadecuada sobre la dosis, escasa información sobre posibles aditivos o contaminantes, y falta de datos adecuados sobre la duración/dosis total del consumo de cannabis a lo largo de la vida [11]. Las pruebas que encontró el comité se resumen en el informe [11].

2. Mecanismo de acción del cannabis

Existe una amplia literatura sobre los efectos del cannabis (cannabinoides de origen vegetal), y muchos de los primeros estudios se realizaron en sujetos humanos [12]. Recientemente, la investigación sobre los cannabinoides de origen vegetal se ha visto estimulada por el reconocimiento de que existen receptores específicos en el cerebro que reconocen los cannabinoides, y por el descubrimiento de una serie de cannabinoides endógenos que se producen⁵⁰ en el organismo y que actúan como

ligandos de estos receptores [13]. El sistema endocannabinoides está formado por los cannabinoides endógenos, los receptores de cannabinoides y las enzimas que sintetizan y degradan los cannabinoides. Muchos de los efectos de los cannabinoides y endocannabinoides están mediados por dos receptores acoplados a proteínas G (GPCR), CB1 y CB2, aunque pueden estar implicados receptores adicionales [14]. Los receptores CB1 están presentes en niveles extremadamente altos en varias regiones cerebrales y en cantidades menores en una distribución más amplia. Estos receptores median muchos de los efectos psicoactivos de los cannabinoides. Todos estos compuestos actúan como agonistas en el receptor cannabinoide CB1 [15], que es el único que se sabe que se expresa en el cerebro. Un segundo receptor cannabinoide, el CB2, se expresa solo en tejidos periféricos, principalmente en el sistema inmunitario [16–18]. Tanto el CB1 como el CB2 se acoplan principalmente a proteínas G inhibitoras y están sujetos a las mismas influencias farmacológicas que otros GPCR. Así, el agonismo parcial, la selectividad funcional y el agonismo inverso desempeñan todos ellos papeles importantes en la determinación de la respuesta celular a ligandos específicos de los receptores cannabinoides. Estos receptores son cruciales para utilizar los componentes activos del cannabis que influyen en la homeostasis. Diversos cannabinoides tienen efectos diversos sobre los receptores, funcionando como agonistas, antagonistas o antagonistas parciales, así como afectando al receptor vanilloide [14]. La identificación de los receptores cannabinoides surgió del deseo de comprender los efectos psicoactivos del Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC), el principal componente psicoactivo del cannabis [18]. El THC es el principal activador del CB1 a través de moduladores alostéricos, lo que potencialmente puede permitir los efectos terapéuticos del THC sin los efectos intoxicantes [18]. El gen CNR1 produce la proteína CB1 [19]. Dado que cada individuo porta una versión diferente del gen CNR1, muchas personas tienen una experiencia diferente con el uso de compuestos como el THC y el CBD [19]. El THC y los cannabinoides sintéticos también actúan en cierta medida como agonistas en el receptor CB2. Ambos receptores cannabinoides son miembros de la clase acoplada a proteínas G, y su activación está vinculada a la inhibición de la actividad de la adenilato ciclasa [20].

Fumar sigue siendo el medio más eficaz de consumir la droga y los usuarios pueden ajustar la dosis ajustando la frecuencia y la profundidad de la inhalación [21]. El THC también puede tomarse por vía oral en alimentos que contienen grasa, con un retraso en la absorción [21]. También se dispone de varios cannabinoides sintéticos fabricados por el hombre [16].

3. Justificación de los estudios sobre el efecto del cannabis en el cerebro y la salud mental

Aunque el consumo de cannabis puede afectar a numerosos sistemas orgánicos (cardiovascular, pulmonar, esquelético, etc.), nos centramos en el cerebro y la salud mental. Recientemente ha habido un interés generalizado en la relación entre el consumo de cannabis y la psicosis, con más de 100 artículos que abordan este tema cada año desde 2012, en comparación con menos de 10 al año durante la década de 1990 [22]. Este intenso interés se debe probablemente a la creciente aprobación en los Estados Unidos de las leyes sobre la marihuana medicinal. Se espera que el interés en esta área siga aumentando a medida que el cannabis esté legalmente disponible para los adultos con fines recreativos. La preocupación es que un consumo de cannabis más generalizado pueda aumentar el riesgo de esquizofrenia [22]. Los estudios de investigación indicaron que el consumo intenso diario de cannabis durante períodos prolongados ejerce efectos nocivos sobre el tejido cerebral y la salud mental [23]. Existen pruebas significativas de que la exposición al cannabis prenatal, perinatal y adolescente puede inducir una amplia gama de alteraciones cerebrales y conductuales en la edad adulta [24].

4. Beneficios asociados al cannabis

Los estudios preliminares sobre la marihuana medicinal sugieren una variedad de beneficios, incluida la mejora del dolor crónico, la inflamación, la espasticidad y otras afecciones que se observan comúnmente en la práctica de la fisioterapia [25]. Ha habido muchos ensayos clínicos en una variedad de afecciones, incluido el dolor neuropático, la esquizofrenia, el trastorno bipolar, el trastorno depresivo mayor, la privación de sueño y el síndrome de Tourette [25].

Aunque las pruebas sugieren que el consumo intenso de cannabis recreativo está vinculado a déficits cognitivos y a cambios neurales potencialmente indeseables, como se describe a continuación, los hallazgos de los estudios sobre el consumo de cannabis recreativo pueden no ser aplicables a la marihuana medicinal [26]. Un estudio examinó si los pacientes que reciben marihuana medicinal mostrarían una mejora en el funcionamiento cognitivo [27]. Se justifican más estudios para aclarar el impacto neural y cognitivo específico del uso de marihuana medicinal y cómo se compara con el uso recreativo.

Los investigadores han evaluado el papel de los cannabinoides como neuroprotectores en el cerebro lesionado, con un efecto positivo en la lesión neuronal aguda [28–31]. Se necesitan ensayos clínicos en humanos para validar estos resultados y comprender el mecanismo subyacente implicado en la lesión cerebral con el uso de cannabinoides.

La Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) ha aprobado el Dronabinol, el nombre genérico del THC sintético, comercializado con el nombre comercial de Marinol® y clínicamente indicado para contrarrestar las náuseas y los vómitos asociados a la quimioterapia y para estimular el apetito en pacientes con SIDA afectados por el síndrome de desgaste. Un análogo sintético del THC, el nabilone (Cesamet®), se prescribe para indicaciones similares. Tanto el dronabinol como el nabilone se administran por vía oral y tienen un inicio de acción lento. En julio de 2016, la FDA aprobó Syndros®, una formulación líquida de dronabinol, para el tratamiento de pacientes que experimentan náuseas y vómitos inducidos por la quimioterapia y que no han respondido a las terapias convencionales. El agente también está indicado para el tratamiento de la anorexia asociada a la pérdida de peso en pacientes con SIDA. Los nabiximoles (Sativex®) son un fármaco de combinación estandarizado en composición, formulación y dosis. Los principales componentes cannabinoides activos de Sativex son los cannabinoides: tetrahidrocannabinol (THC) y cannabidiol (CBD), que fue aprobado por el Reino Unido en 2010 [32]. Los nabiximoles se administran como un aerosol oromucoso y están indicados en el alivio sintomático de la esclerosis múltiple [32]. Cada pulverización administra una dosis de 2,7 mg de THC y 2,5 mg de CBD [32]. A partir de 2018, los

nabiximoles se han lanzado en varios países. Existen otras aplicaciones prometedoras para el CBD, como el abandono del tabaquismo [33], el tratamiento de la abstinencia de drogas [34], el tratamiento de las convulsiones y la epilepsia [35], el tratamiento de la ansiedad [36], la reducción de algunos de los efectos del Alzheimer [37] y los efectos antipsicóticos en pacientes con esquizofrenia [38].

4.1 Epilepsia pediátrica

Existe una necesidad significativa de un tratamiento seguro y eficaz de la epilepsia infantil intratable, especialmente en los casos de encefalopatías epilépticas devastadoras, como los espasmos infantiles, el síndrome de Lennox-Gastaut [39] y el síndrome de Dravet [40]. A pesar de los limitados datos preclínicos y de la falta de ensayos clínicos bien diseñados, el CBD y los extractos de planta entera de cannabis enriquecidos con CBD han generado entusiasmo como posibles tratamientos para la epilepsia [41]. Tras los informes anecdóticos de una posible eficacia por parte de padres que habían administrado estos productos a sus hijos [42, 43], se llevaron a cabo ensayos clínicos de múltiples preparaciones de CBD [43–45]. Los resultados mostraron una fuerte eficacia para el tratamiento del síndrome de Lennox-Gastaut [46], el síndrome de Dravet [46] y la epilepsia altamente resistente al tratamiento en niños y adultos jóvenes [45], y confirmaron los informes de estudios abiertos [47]. Entre los pacientes con síndrome de Dravet, el tratamiento con CBD dio lugar a una mayor reducción de la frecuencia de las crisis convulsivas que el placebo, pero se asoció con tasas más elevadas de acontecimientos adversos [48]. Los efectos adversos son un riesgo de daño hepático, letargo y posiblemente depresión y pensamientos suicidas según el prospecto del paciente, pero estos también son ciertos para otros tratamientos de la epilepsia. La FDA aprobó Epidiolex® (nombre de marca), una solución oral purificada a base de CBD basada en las pruebas recopiladas, para el tratamiento del síndrome de Lennox-Gastaut y el síndrome de Dravet en junio de 2018. A Epidiolex® se le ha asignado la Lista V de la Ley de Sustancias Controladas. Se requieren estudios longitudinales para aclarar mejor los efectos de este producto en la población de interés, especialmente con respecto a los cerebros jóvenes en desarrollo.

4.2 Trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) Existen algunas pruebas no científicas que respaldan el uso de cannabis para tratar el TDAH en niños y adolescentes [49]. Se empleó la imagen por resonancia magnética funcional (IRMf) para investigar la relación entre el diagnóstico de TDAH y el consumo de cannabis en adultos jóvenes [50]. No se observó impacto alguno sobre la inhibición de la respuesta conductual en una tarea Go/No-Go (la tarea Go/No-Go es una prueba computerizada utilizada para evaluar el control inhibitorio, un proceso cognitivo que permite a los humanos cancelar rápidamente la actividad motora incluso después de su iniciación), pero sí se halló que el consumo de cannabis se asociaba con un aumento de la señal en el hipocampo y el cerebelo durante la IRMf solo en los sujetos de control consumidores de cannabis, pero no en los participantes con TDAH consumidores de cannabis [50]. Esto podría reflejar una trayectoria de maduración retardada en los participantes con TDAH según los autores, y sugirieron nuevos estudios relacionados con la función hipocampal y cerebelosa para obtener más información sobre cómo este circuito se ve alterado por el TDAH y el consumo de cannabis. Una de las importantes implicaciones a largo plazo del diagnóstico de TDAH en la infancia es un mayor riesgo de uso, abuso o dependencia de sustancias en la adolescencia y la edad adulta [51]. Se diseñó un estudio longitudinal para abordar esta laguna en la investigación mediante la selección de una muestra de 75 individuos de entre 21 y 25 años con y sin diagnóstico de TDAH en la infancia, que eran consumidores frecuentes o no consumidores de cannabis. Estos participantes fueron seguidos desde los 7–9,9 años [51]. Los resultados indicaron que el consumo de cannabis no exacerbaba los síntomas relacionados con el TDAH y se propuso un estudio con muestras más amplias. Los estudiantes ($n = 1738$) completaron una encuesta en línea que contenía medidas de síntomas de TDAH, consumo de cannabis, efectos percibidos del cannabis sobre los síntomas de TDAH y los efectos secundarios de la medicación, así como disfunción ejecutiva [52]. Informaron que el cannabis tiene efectos beneficiosos agudos sobre varios síntomas del TDAH (p. ej., hiperactividad, impulsividad). También percibieron que el cannabis mejoraba la mayoría de los efectos secundarios de su medicación (p. ej., irritabilidad, ansiedad). La fre-

cuencia de consumo de cannabis fue un moderador significativo de las asociaciones entre la gravedad de los síntomas y la disfunción ejecutiva. Los resultados sugieren que las personas con TDAH podrían estar usando cannabis para automedicarse por muchos de sus síntomas y efectos secundarios de la medicación, y que un consumo más frecuente podría mitigar la disfunción ejecutiva relacionada con el TDAH [52].

4.3 Trastorno del espectro autista (TEA)

El trastorno del espectro autista (TEA) define un grupo de trastornos del neurodesarrollo cuyos síntomas incluyen comunicación e interacción social alteradas con movimientos motores restringidos o repetitivos, frecuentemente asociados con déficits cognitivos generales. El sistema endocannabinoide se ve a menudo afectado en pacientes con TEA con comorbilidades, como convulsiones, ansiedad, deterioro cognitivo y alteraciones del sueño [53]. Existe un interés creciente en los cannabinoides, especialmente el CBD, como tratamiento complementario para los síntomas centrales y las comorbilidades del TEA. En un estudio preclínico que probó la eficacia del CBD en un modelo murino de síndrome de Dravet, el CBD redujo tanto las convulsiones como las conductas de TEA [54]. Hallaron que cuando se administraba CBD a los ratones 1 hora antes de las convulsiones inducidas, estas eran más breves y menos graves que en los ratones que no recibieron CBD. Los autores también hallaron que el CBD mejoraba la función de las neuronas inhibitorias, y esta acción podía replicarse con un antagonista de GPR55, lo que sugiere otra opción terapéutica potencial. Actualmente ningún estudio clínico ha examinado los efectos de ningún cannabinoide sobre la reducción de la epilepsia específicamente en pacientes con TEA. Se necesitan más estudios preclínicos y clínicos para investigar los pros y los contras del CBD y otros cannabinoides en el TEA antes de que se establezcan como tratamiento para los síntomas y las comorbilidades.

Cannabinoides: perspectivas recientes y aplicaciones en la salud humana

5. Problemas asociados con el cannabis

5.1 Cognición

Aunque el cannabis y los productos a base de cannabinoides son cada vez más aceptados en todo el mundo, actualmente existe una comprensión limitada del efecto de los diversos compuestos cannabinoides sobre el cerebro. Los

cannabinoides exógenos interactúan con el sistema cannabinoide endógeno que sustenta funciones vitales en el cerebro para perturbar funciones cerebrales y cognitivas clave. Chye et al. [55] revisaron las pruebas de neuroimagen existentes relacionadas con el consumo de cannabis y sus principales cannabinoides (THC, CBD, etc.), incluido el cannabinoide sintético. Concluyeron que la investigación con neuroimagen se ha limitado a estudios observacionales de consumidores de cannabis, sin considerar el papel específico de los diversos cannabinoides. La investigación hasta la fecha ha sugerido que el consumo de cannabis conduce a deterioros cognitivos [56] clasificados como cognición aguda y crónica. Existen pruebas sólidas de que la administración aguda de cannabis afecta negativamente a la función ejecutiva. El rendimiento deteriorado de consumidores ocasionales, moderados y intensos quedó documentado en algunos, pero no todos los estudios, en funciones como el razonamiento, la toma de decisiones y la resolución de problemas [57–65]. Como ejemplo, un experimento doble ciego en 35 varones consumidores leves de cannabis mostró que la administración de THC puede ser un modelo farmacológico cannabinoide útil para los efectos psicóticos en voluntarios sanos [57]. Se halló que la marihuana de alta potencia (13% de THC) deteriora consistentemente la función ejecutiva y el control motor, en contraste con la marihuana de baja potencia (4% de THC) [60]. El uso de dosis más altas de THC en experimentos controlados puede ofrecer una indicación fiable del deterioro inducido por el THC en comparación con las dosis más bajas de THC que tradicionalmente se han utilizado en los estudios de rendimiento [60]. El consumo de cannabis se ha asociado con un mayor riesgo de verse involucrado en accidentes de tráfico. Ramaekers et al. [61] diseñaron un estudio para investigar el deterioro del rendimiento en función del THC en suero. Los resultados indicaron que las concentraciones séricas de THC entre 2 y 5 ng/ml establecen el rango inferior y superior de un límite de THC para el deterioro. Se han estudiado los efectos del consumo de marihuana sobre la cognición de las mujeres [64]. Anderson et al. examinaron las diferencias sexuales en los efectos agudos de la marihuana sobre la cognición en 70 (35 varones y 35 mujeres) consumidores ocasionales de marihuana [64]. Las tareas elegidas para el estudio fueron atención dividida, flexibilidad cognitiva, estimación temporal y procesamiento visoes-

pacial, afectadas por el sexo y/o la marihuana. Los resultados indicaron que el uso agudo de marihuana deterioraba el rendimiento en atención dividida, estimación temporal y flexibilidad cognitiva. Aunque no pareció haber diferencias sexuales en los efectos de la marihuana sobre la cognición, las mujeres solicitaron interrumpir la sesión de consumo con más frecuencia que los hombres, lo que condujo a resultados no concluyentes. El deterioro del rendimiento durante la intoxicación por THC se ha descrito en consumidores intensos de cannabis [64]. Veinticuatro sujetos participaron en un diseño doble ciego, controlado con placebo, de modelo mixto bidireccional. Ambos grupos recibieron dosis únicas de placebo y 500 µg/kg de THC mediante consumo fumado. Se realizaron pruebas de rendimiento a intervalos regulares entre 0 y 8 horas después del consumo e incluyeron medidas de control perceptivomotor (tarea de seguimiento crítico), procesamiento de doble tarea (tarea de atención dividida), inhibición motora (tarea de señal de parada) y cognición (Torre de Londres). El THC deterioró significativamente el rendimiento de los consumidores ocasionales de cannabis en la tarea de seguimiento crítico, la tarea de atención dividida y la tarea de señal de parada. El THC no afectó al rendimiento de los consumidores intensos de cannabis excepto en la tarea de señal de parada; es decir, aumentó el tiempo de reacción de parada,

Cannabis y el cerebro: ¿amigo o enemigo?

particularmente en concentraciones altas de THC. Las comparaciones del rendimiento global en consumidores ocasionales e intensos no revelaron diferencias persistentes de rendimiento debidas al THC residual en los consumidores intensos. Estos datos sugieren que el historial de consumo de cannabis determina fuertemente la respuesta conductual a dosis únicas de THC. Un gran conjunto de pruebas apunta al deterioro cognitivo tras el consumo crónico e intenso de cannabis [66–68], que persiste más allá de los efectos agudos. También hay pruebas sustanciales con hallazgos negativos en consumidores de cannabis [69–71]. La consistencia en el diseño experimental sigue siendo un aspecto problemático del estudio de los efectos a largo plazo del consumo crónico de cannabis sobre la cognición [72]. La memoria ha sido el dominio cognitivo más consistentemente deteriorado, junto con el aprendizaje verbal

[67, 73, 74]. En los consumidores crónicos, los deterioros de la memoria y la atención se agravan con el aumento de los años de consumo de cannabis [68, 75–77]. Contrariamente a estos hallazgos, estudios recientes han mostrado que el THC puede promover la neurogénesis, restaurar la memoria y prevenir procesos neurodegenerativos y el declive cognitivo en modelos animales de la enfermedad de Alzheimer [78–80]. La búsqueda bibliográfica indica [81] que el CBD mejora la cognición en múltiples modelos preclínicos de deterioro cognitivo, incluidos modelos de trastornos neuropsiquiátricos [esquizofrenia], neurodegenerativos (enfermedad de Alzheimer), neuroinflamatorios (meningitis, sepsis y malaria cerebral) y neurológicos (encefalopatía hepática e isquemia cerebral). Solo existe una investigación clínica sobre los efectos del CBD en la cognición de pacientes con esquizofrenia, con resultados negativos para la prueba de Stroop [81]. La eficacia del CBD para mejorar la cognición en la esquizofrenia no puede explicarse debido a la falta de pruebas clínicas. Se justifica una mayor investigación sobre su eficacia en la esquizofrenia dada la capacidad del CBD para restaurar la cognición en múltiples estudios de deterioro. Se realizaron estudios sobre el efecto del cannabis en consumidores jóvenes y mostraron que el consumo regular durante la adolescencia puede producir efectos adversos duraderos sobre la cognición y el CI [75, 82–83]. Por otro lado, otro grupo halló pocas pruebas de que el consumo de cannabis estuviera relacionado con un rendimiento cognitivo deteriorado e hipotetizó que el entorno familiar podría explicar la menor función cognitiva que a menudo se informa en los consumidores de cannabis [84]. Otro estudio no halló relación entre el consumo de cannabis en la adolescencia y el rendimiento educativo [85]. No está claro, sin embargo, si el deterioro surgirá más adelante en la vida. Cyrus et al. [86] revisaron la literatura sobre la relación entre la función cognitiva adolescente y el rendimiento académico con el consumo de cannabis. La conclusión fue que la frecuencia y la cantidad de consumo de cannabis estaban relacionadas con una disminución de la conectividad funcional del cerebro, un peor control ejecutivo y un peor rendimiento académico. Factores como la supervisión parental mínima, el consumo de cannabis por los pares, el aislamiento social y la raza/etnia se correlacionaron positivamente con un consumo más frecuente de cannabis en la adolescencia. Se recomendaron inter-

venciones para prevenir el inicio temprano del consumo de cannabis que puede conducir al consumo crónico en jóvenes que podrían estar en mayor riesgo. Ha habido estudios sobre el grado de recuperación de la función cognitiva con la abstinencia. En un estudio de adolescentes (16–25 años de edad), se hallaron mejoras en la memoria verbal en la primera semana de abstinencia, cuya abstinencia se monitorizó durante 1 mes tras el consumo regular [87]. Los estudios transversales indican mejoría en la atención y la memoria verbal, pero no en otros dominios cognitivos, en adolescentes abstinentes durante 4–5 semanas [88, 89]. Se recomienda más investigación para monitorizar la mejora del rendimiento cognitivo durante períodos prolongados de abstinencia del consumo crónico de cannabis para abordar estas cuestiones, incluidos los mecanismos neuronales.

Cannabinoides: perspectivas recientes y aplicaciones en la salud humana

La falta de certeza acerca de los efectos del consumo de cannabis sobre la cognición puede deberse a la composición del cannabis [90]. Un estudio mostró un mayor deterioro de la memoria, así como signos de depresión y ansiedad, asociados al consumo de cannabis con mayor contenido de THC en comparación con el cannabis que contenía menor THC y mayores niveles de CBD [76]. Estos estudios deberían repetirse con contenidos de THC conocidos para evaluar la conducta mental.

Se realizó una revisión para estudiar las consecuencias duraderas del consumo habitual de cannabis sobre la cognición, la estructura y la función cerebrales en adultos [91]. La revisión sugirió que los estudios neuropsicológicos aportaban pruebas de déficits cognitivos leves al menos 7 días después de un consumo intenso de cannabis. Los estudios de fMRI mostraron pruebas crecientes de anomalías en el volumen del hipocampo y en la densidad de materia gris de los consumidores de cannabis en relación con los controles; sin embargo, los cambios morfológicos en otras regiones cerebrales fueron más controvertidos. Los estudios de fMRI sugirieron un patrón alterado de actividad cerebral asociado al consumo de cannabis. Debe señalarse que existen varias limitaciones para la comparación entre estudios y una heterogeneidad sustancial en los hallazgos [91]. Las alteraciones morfológicas podrían afectar en últi-

ma instancia a la organización y la función cerebrales, pero el curso temporal asociado a la recuperación neuronal, así como el impacto real sobre el funcionamiento cognitivo, siguen siendo desconocidos. La aplicación de la fMRI empieza a hacer avanzar la comprensión de los mecanismos neurales asociados a las consecuencias cognitivas observadas en los consumidores de cannabis, a fin de establecer la relación entre el consumo de cannabis, la función cerebral y el rendimiento cognitivo. Entre los factores que deben incluirse están la edad de inicio, el modo de consumo, la frecuencia y la extensión del consumo, la recuperación de la función con la abstinencia con distintas composiciones del producto de cannabis. Los cambios en la actividad cerebral pueden ser un indicador temprano de consecuencias a largo plazo antes de que puedan medirse los déficits cognitivos [56]. La aplicación de la fMRI es también importante para el estudio de la reorganización del cerebro adolescente tras un uso prolongado y para determinar si estos cambios se revierten durante la edad adulta tras la abstinencia.

Eadie et al. [92] determinaron la duración del deterioro neurocognitivo agudo asociado al consumo de cannabis medicinal, y trataron de identificar diferencias entre pacientes de cannabis medicinal y consumidores recreativos. El resultado fue la evidencia de que el rendimiento cognitivo en los pacientes de cannabis medicinal disminuía tras el consumo de THC, con una resolución constante del deterioro en las horas siguientes al consumo de THC. El grado de deterioro es predominantemente dependiente de la dosis, de modo que las dosis más altas de THC eran generalmente más incapacitantes que las dosis más bajas. No hubo diferencia en ninguna prueba neurocognitiva entre el placebo y los grupos de THC activo a las 4 horas de recuperación, independientemente de la dosis de THC inhalada, aunque la duración del deterioro neurocognitivo varió entre estudios, en parte debido a las diferencias en el diseño de los experimentos. Se necesita más investigación para relacionar directamente los niveles de deterioro cognitivo con los niveles de THC en el plasma de los pacientes empleando fMRI.

5.2 Adicción

Zehra et al. [93] revisaron los efectos adictivos agudos y a largo plazo en consumidores de cannabis. El trastorno por consumo de cannabis

(CUD) parece correlacionarse con los patrones generales de cambios descritos en el modelo de adicción de Koob y Volkow [94]. Estudios pre-clínicos y clínicos previos parecen indicar que las características de las tres etapas de la adicción a drogas descritas por Koob y Volkow [94] también prevalecen en la adicción al cannabis. El modelo describe que la mayoría de las drogas de abuso producen una hiperactivación de la vía mesocorticolímbica en la etapa de intoxicación compulsiva de la adicción. Esta hiperactivación parece estar presente en la adicción al cannabis, pero en menor medida [93].

Cannabis and the Brain: Friend or Foe?

La reactividad dopaminérgica inducida por estimulantes se ha asociado con la emocionalidad negativa, una característica importante de la etapa de abstinencia/afecto negativo explicada por Koob y Volkow [94]. Con la adición de la abstinencia como síntoma del CUD, se percibe que el desarrollo de la adicción al cannabis es paralelo a la adicción a otras drogas de abuso. Además, Spechler et al. [95] hallaron que el consumo crónico de cannabis se ha asociado con una desregulación afectiva que puede implicar cambios en el funcionamiento de la amígdala. Cuttler et al. [96] informaron que el cannabis parece alterar la función del eje hipotalámico-hipofisario-suprarrenal (HPA), al igual que otras drogas de abuso, otra neuroadaptación clave de la etapa de abstinencia/afecto negativo.

Norberg et al. [97] informaron que el consumo crónico de cannabis también se asocia con la presencia de craving inducido por señales de cannabis tras la abstinencia, una característica de la etapa de preocupación/anticipación del marco de Koob y Volkow [94]. Hipotetizan que la presencia de craving inducido por señales de cannabis parece estar relacionada con la pérdida del control ejecutivo sobre la saliencia excesiva del cannabis. Además, hallaron que el consumo crónico de cannabis se ha relacionado con deterioro de la memoria y del CI, lo que resulta en cambios en el funcionamiento ejecutivo tras el uso crónico de cannabis.

Es imperativo investigar si existen otras características del marco de adicción propuesto por Koob y Volkow [94] en la adicción al cannabis

mediante estudios longitudinales que aborden los cambios conductuales y del estado de ánimo (como cambios en el CI o la presencia de un trastorno del estado de ánimo). Este estudio debería incluir también el cannabis sintetizado debido a su alta potencia. También debería indagarse en la relación de la adicción con el efecto del uso de THC sobre las neuronas y la microglía. Los resultados de la investigación de Melis et al. [98] indican que la exposición crónica al THC en animales parece activar la microglía y producir neuroinflamación, lo que podría subyacer a algunos de los déficits cognitivos asociados al CUD. Kolb et al. [99] estudiaron los cambios en la morfología de neuronas y glía tras la exposición crónica al cannabis y concluyeron que puede contribuir a los déficits cognitivos y conductuales persistentes relacionados con el CUD. La investigación futura debería investigar si la exposición crónica al THC en animales y humanos está relacionada con cambios en diversos tipos celulares del cerebro que contribuyen a la adicción al cannabis a través de la neuroinflamación.

El consumo combinado de cannabis y alcohol ha aumentado en los últimos años, y está bien establecido que las personas que consumen tanto alcohol como cannabis presentan un mayor riesgo de daños relacionados con sustancias en comparación con las personas que consumen una sola sustancia [100]. Los estudios aportan pruebas de que el consumo combinado de alcohol y cannabis se asocia con características y procesos psicológicos singulares en relación con el uso de una sola sustancia. La investigación en esta área debe continuar considerando la tendencia reciente hacia políticas cada vez más liberales sobre el cannabis en los EE. UU. y otros países.

5.3 Psicosis

Recientemente ha habido un interés generalizado en la relación entre el consumo de cannabis y la psicosis, con más de 100 publicaciones que abordan este tema cada año desde 2012, en comparación con menos de 10 al año durante la década de 1990 [22]. Este intenso interés se debe probablemente a la creciente aprobación en los EE. UU. de las leyes sobre marihuana medicinal. El consumo de cannabis ha experimentado un gran aumento en su producción lícita, pasando de 1,4 toneladas en 2000 a 211 toneladas en 2016, debido a la creciente implementación de

programas medicinales con productos medicinales relacionados con el cannabis para una amplia gama de afecciones neuropsiquiátricas.

Yücel et al. [23] estudiaron si el consumo intenso de cannabis a largo plazo se asocia con anomalías anatómicas macroscópicas en 2 regiones del cerebro ricas en receptores cannabinoides,

Cannabinoids - Recent Perspectives and Applications in Human Health

el hipocampo y la amígdala. Seleccionaron cuidadosamente a 15 hombres consumidores de cannabis a largo plazo (>10 años) e intensos (>5 porros diarios) (edad media, 39,8 años; duración media del uso habitual, 19,7 años) sin antecedentes de abuso de múltiples drogas ni de trastorno neurológico/mental, y a 16 sujetos de control no consumidores emparejados (edad media, 36,4 años). Los resultados indicaron que los consumidores de cannabis presentaban volúmenes reducidos bilateralmente del hipocampo y de la amígdala, con una magnitud de reducción relativa y significativamente mayor en el primero (12,0% frente a 7,1%). El volumen del hipocampo del hemisferio izquierdo se asoció inversamente con la exposición acumulada al cannabis durante los 10 años anteriores y con la reducción de los síntomas psicóticos positivos. Las puntuaciones de síntomas positivos también se asociaron con la exposición acumulada al cannabis. Aunque los consumidores de cannabis rindieron significativamente peor que los controles en el aprendizaje verbal, esto no se correlacionó con los volúmenes cerebrales regionales en ninguno de los dos grupos. Estos resultados aportan nuevas pruebas de anomalías estructurales relacionadas con la exposición en el hipocampo y la amígdala en consumidores intensos de cannabis a largo plazo, con hallazgos similares en la literatura animal. Los hallazgos indicaron que el consumo intenso y diario de cannabis durante largos períodos ejerce efectos nocivos sobre el tejido cerebral y la salud mental.

Hurd et al. [24] revisaron varias investigaciones y concluyeron que existe una fuerte evidencia de que la exposición al cannabis prenatal, perinatal y adolescente puede causar una serie de cambios cerebrales y conductuales en la edad adulta. Esto ocurre mediante la interferencia con múltiples sistemas neurobiológicos en regiones cerebrales implicadas en los trastornos psicóticos/afectivos. El consumo de cannabis en la ado-

lescencia se asocia con un mayor riesgo de psicosis más adelante en la vida [101]. Que tal riesgo desemboque realmente en trastornos psiquiátricos y por uso de sustancias dependerá de diversos factores, como la genética, la edad, la frecuencia de uso, el uso concurrente de otras sustancias y el sexo, que se comprenderán mejor a medida que la investigación siga ampliándose. Recomendaron que los responsables de las políticas apliquen los datos existentes para educar al público sobre el riesgo potencial para la salud y los efectos a largo plazo sobre la salud mental de los adultos.

El THC u otros agonistas cannabinoides adolecen todos del problema de una estrecha ventana terapéutica entre los beneficios clínicos deseados y los efectos secundarios psíquicos no deseados. Es posible que la manipulación farmacológica del sistema endocannabinoide mediante fármacos que inhibieran la inactivación de los endocannabinoides pueda ofrecer en el futuro un enfoque más seguro y sutil para las medicinas basadas en el cannabis [102].

La evidencia empírica sugiere que el consumo de cannabis se asocia tanto con el CUD como con la enfermedad psiquiátrica comórbida, lo que no se percibe así en la población general de los EE. UU. Por otra parte, hay pruebas mixtas en cuanto al papel del cannabis en el pronóstico de un trastorno concurrente en todas las categorías de trastornos psiquiátricos [103]. Puede concluirse que es necesario realizar un esfuerzo longitudinal para ampliar el corpus existente de literatura a fin de comprender mejor los efectos agudos y a largo plazo del cannabis sobre la enfermedad psiquiátrica comórbida.

6. Incógnitas asociadas al consumo de cannabis/drogas ilícitas sintéticas

Es imperativo que la legalización del cannabis, que probablemente aumentará su consumo, no cause un efecto adverso significativo como el del consumo de tabaco. Este tema se trató en una publicación anterior de los autores [10]. Se recomienda que se realice investigación sobre los efectos sanitarios a largo y a corto plazo de la exposición al humo de marihuana de segunda mano para confirmar un posible efecto adverso sobre el cerebro y la salud mental. El gran mercado del cannabis ha dado

lugar a que se informe de numerosos contaminantes naturales potencialmente peligrosos

Cannabis and the Brain: Friend or Foe?

en el cannabis en bruto y en sus preparados. Este tema también se trató en una publicación anterior de los autores [10]. Estas drogas tienen efectos perjudiciales sobre el cerebro y afectan principalmente al sistema nervioso central. Comprender el mecanismo de alteración cerebral debido al abuso de drogas sintéticas puede ayudar en la detección temprana, el diagnóstico y el pronóstico del daño del tejido cerebral en el ámbito clínico. Además, estas drogas tienen a veces efectos adversos graves y potencialmente mortales sobre el cuerpo humano. Se han realizado algunos estudios de MRI estructural en abusadores de drogas sintéticas para revelar los efectos de estas drogas sobre el cerebro [104], a fin de ofrecer opciones de tratamiento para diversas clases de drogas sintéticas.

7. Conclusiones y recomendaciones

La legalización del cannabis en los Estados Unidos y otros países, junto con el aumento de diversos métodos de consumo, hace vital comprender las consecuencias sanitarias asociadas. Existen indicios que sugieren que muchos compuestos presentes en el cannabis tienen un potencial beneficio terapéutico, ya sea solos o en combinación con otros compuestos cannabinoides o terpénicos [105].

Se necesitan más estudios preclínicos y clínicos para examinar los pros y los contras del CBD y otros cannabinoides en el TEA, el TDAH y la epilepsia pediátrica antes de que se establezcan como tratamiento. Se requiere más investigación para comprender mejor los efectos agudos y a largo plazo del cannabis sobre la enfermedad psiquiátrica comórbida. Se recomienda una mayor aplicación de la fMRI para comprender la reorganización cerebral del adolescente tras un uso prolongado y si estos cambios se revierten durante la edad adulta tras la abstinencia. Los estudios futuros deberían investigar si la exposición crónica al THC está vinculada a cambios en diversos tipos celulares del cerebro que contribuyen a la adicción al cannabis. Los hallazgos sobre la adicción al can-

nabis indican que los cambios neurobiológicos en el CUD parecen paralelos a los de otras adicciones. Es necesaria más investigación en vista del reciente aumento del consumo de cannabis. Un número creciente de nuevas investigaciones ha concluido que existe evidencia significativa de que la exposición prenatal, perinatal y adolescente al cannabis puede inducir una amplia gama de alteraciones cerebrales y conductuales en la edad adulta. Se justifica nueva investigación para comprender mejor el riesgo en función de diversos parámetros como la genética y el sexo. La investigación que identifique cualquier efecto potencial del humo pasivo de cannabis (CSHS) sobre posibles cambios en la función cognitiva es importante si se está considerando el consumo en zonas de acceso público.

Los estudios de investigación actuales sobre cómo la exposición al cannabis puede afectar al cerebro y a la salud mental están empezando a informar a los responsables de las decisiones de política pública, incluida la edad aceptable de consumo, los límites de dosis y las indicaciones de uso. No obstante, se requiere investigación adicional para comprender plenamente el impacto del cannabis sobre la cognición, especialmente en el caso del CBD, donde puede haber diversas variables biológicas de confusión propias de cada condición médica individual. El impacto del cannabis sobre el cerebro adolescente aún en desarrollo merece especial atención. Si bien el uso recreativo entre adolescentes y los usuarios de inicio temprano está relativamente bien estudiado, algunas áreas siguen estando poco estudiadas y necesitan datos para informar una política pública cambiante. Por ejemplo, se requiere un esfuerzo adicional para comprender plenamente el impacto del consumo moderado de cannabis, las consecuencias a corto y largo plazo del uso de cannabis de alta potencia y de los nuevos métodos de administración, los efectos del consumo de cannabis en adultos mayores, y la eficacia y seguridad de los productos existentes y futuros. Las dificultades en todo el campo para la cuantificación, los métodos de medición de las construcciones cognitivas y la influencia de los efectos subagudos obstaculizan seriamente el camino

por recorrer y requieren atención ahora. Debería priorizarse la colaboración multidisciplinaria y la inversión en estudios que resuelvan estos problemas.

Aunque los datos existentes sugieren que hay hallazgos relativos a los efectos crónicos y agudos del cannabis sobre la actividad cerebral, los refinamientos pueden ayudar a responder preguntas sobre las posibles diferencias entre aquellas personas que se vuelven dependientes del cannabis frente a aquellas que lo consumen de forma recreativa, los posibles efectos residuales del uso crónico, las consecuencias de una edad de exposición más temprana al cannabis, los efectos agudos y crónicos sobre el desempeño en tareas, y las posibles similitudes neurobiológicas entre los trastornos psiquiátricos comórbidos y el consumo de cannabis. Los esfuerzos futuros que utilicen criterios diagnósticos específicos y combinen las pruebas neurocognitivas con la imagen funcional pueden ayudar a abordar preguntas, incluida la base de cualquier déficit cognitivo residual por el consumo de cannabis y cualquier factor potencial que distinga a los sujetos dependientes del cannabis de los usuarios de cannabis.

Los mecanismos que subyacen a las asociaciones entre el consumo de cannabis y la enfermedad psiquiátrica y el deterioro cognitivo aún no se comprenden bien, aunque los estudios epidemiológicos y clínicos han establecido consistentemente esta relación. Está bien establecido que la exposición durante la adolescencia es un período de alto riesgo, que da lugar a efectos adversos más graves y persistentes que la exposición durante la edad adulta. Es plausible que el consumo prolongado durante la adolescencia provoque una alteración en los procesos normativos de neuromaduración. Con el tiempo, esto podría dar lugar a cambios duraderos en la estructura y función cerebrales que subyacen a muchos de los resultados cognitivos y emocionales adversos asociados al consumo intenso. Debería fomentarse entre los profesionales sanitarios la difusión de la conciencia sobre el riesgo potencial de trastorno cognitivo en los usuarios adolescentes de cannabis y su cribado a una edad más temprana para detectar posibles factores de riesgo de futuros daños cognitivos. Claramente, se necesita más investigación para estudiar los efectos cognitivos de los cannabinoides sintéticos con el fin de informar la polí-

tica pública para frenar la propagación de los cannabinoides sintéticos y mantener la relación riesgo/beneficio del consumo medicinal de cannabis lo más baja posible. Además, el papel del cannabis medicinal, incluidos los beneficios y los riesgos potenciales en lo que respecta al manejo cerebral, debe estudiarse en experimentos aleatorizados.

La investigación emergente sobre el consumo conjunto de cannabis y alcohol y los resultados asociados tiene el potencial de informar los esfuerzos de intervención. A medida que la investigación sobre el uso combinado de cannabis y alcohol siga evolucionando, el siguiente paso sería desarrollar un programa que aborde el consumo conjunto como una conducta de alto riesgo específica. Esperamos que los nuevos estudios ayuden a comprender mejor el papel creciente del cannabis en la salud y la enfermedad neuropsiquiátricas. También esperamos presenciar pronto avances en el campo de los tratamientos farmacológicos relacionados con el cannabis.

Por último, es importante distinguir entre los beneficios del cannabis estudiados científicamente y aprobados por la FDA, frente a los beneficios potenciales para indicaciones no estudiadas rigurosamente, por ejemplo, el trastorno por déficit de atención e hiperactividad. A la inversa, hay situaciones en las que se han completado con éxito estudios clínicos controlados rigurosos para establecer la credibilidad científica del cannabis para ciertas indicaciones, pero aún no se ha completado la aprobación regulatoria. Es esencial que tanto el rigor científico como la aprobación regulatoria respalden una terapia específica con cannabis.

Conflicto de intereses Los autores no tienen conflictos de intereses financieros que declarar.

Cannabis and the Brain: Friend or Foe?

Declaraciones y manifestaciones Consentimiento para la publicación: Los autores han dado su consentimiento para la publicación. Financiación: El trabajo está financiado por 3DTholdings, LLC.

Datos de los autores Ali E. Dabiri¹ y Ghassan S. Kassab² ¹ 3DT Holdings, San Diego, CA, EE. UU. ² California Medical Innovation Institu-

te, San Diego, CA, EE. UU. Dirigir toda la correspondencia a: adabiri@3dtholdings.com

the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0>), que permite el uso, la distribución y la reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se cite adecuadamente la obra original.

Cannabinoids - Recent Perspectives and Applications in Human Health

Colofón

Antología preparada por Pevgrow. Traducción al español de tres capítulos de IntechOpen publicados bajo CC BY 3.0. Cada capítulo pertenece a sus autores y conserva su licencia original. Puedes copiar, adaptar y redistribuir esta traducción citando a los autores, la obra de procedencia y «Biblioteca Pevgrow».

Colofón

Edición digital preparada por Pevgrow para su Biblioteca de cannabis.

Texto original: Varios autores (IntechOpen), *Antología de cannabinoides: química, calidad y salud del cannabis*, 2026. Original publicado en acceso abierto; conserva la atribución de su fuente.

Fuente del original: IntechOpen, CC BY 3.0.

Esta traducción se distribuye bajo licencia CC BY 4.0. Puedes copiarla, adaptarla y redistribuirla citando «Biblioteca Pevgrow».

Generado el 2026-10-25.