

<b>Título de la revisión sistemática</b>
------------------------------------------

<b>Estudio de métodos de extracción y análisis de los cannabinoides CBD, CBN, <math>\Delta^9</math>-THC en la planta de <i>Cannabis sativa L.</i></b>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

<b>Datos de la propuesta</b>
------------------------------

Grupo de investigación	GIEMA
Línea de investigación	Alimentos y Fármacos

<b>Estudiante</b>
-------------------

Nombre:	Luis Carlos Mejia Rios
Identificación	1.144.200.875
Correo:	Luis.mejia08@usc.edu.co
Teléfono:	3218555460

<b>Director</b>
-----------------

Nombre:	Oscar Felipe Amelines Sarria
Identificación	6107514
Correo:	oscar.amelines00@usc.edu.co
Teléfono:	3176821066

<b>Directora</b>
------------------

Nombre:	
Identificación	
Correo:	
Teléfono:	

# Estudio de métodos de extracción y análisis de los cannabinoides CBD, CBN, $\Delta^9$ -THC en la planta *Cannabis sativa L.*

**Luis Carlos Mejía Ríos**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:  
**Químico**

Director:  
Oscar Felipe Amelines Sarria

Línea de Investigación:  
Alimentos y fármacos.

Grupo de Investigación:  
Grupo de investigación en electroquímica y medio ambiente (GIEMA)

Universidad Santiago de Cali  
Facultad de Ciencias Básicas,  
Programa de Química  
Cali, Colombia  
2022

# Estudio de métodos de extracción y análisis de los cannabinoides CBD, CBN, $\Delta^9$ -THC en la planta de *Cannabis sativa L.*

## Resumen

Este estudio revisa las metodologías de extracción aplicadas para la planta de *Cannabis sativa L.* describe las condiciones de estas metodologías y cuál de ellas presenta mejores rendimientos para los cannabinoides cannabidiol (CBD), tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) y cannabinol (CBN), también se estudia los métodos de análisis de estos y los usos medicinales. La revisión sistemática se realizó de acuerdo a las pautas PRISMA. Las bases de datos utilizadas fueron ScienceDirect, Springer, Scopus y Google Scholar.

Se ha informado que los cannabinoides CBD,  $\Delta^9$ -THC y CBN poseen propiedades farmacológicas las cuales pueden cubrir necesidades en ciertas patologías como lo es el cáncer, glaucoma, epilepsia, párkinson y el COVID-19. La metodología de extracción con dióxido de carbono supercrítico resultó ser la más utilizada y la más amigable con el medio ambiente. Los métodos de análisis HPLC-MS y GC-MS resultan ser idóneos para analizar los cannabinoides estudiados en esta revisión sistemática.

Palabras clave: *Cannabis sativa*, cannabinol, cannabidiol, tetrahidrocannabinol, HPLC, GC.

## Abstract

This study reviews the extraction methodologies applied to the plant of *Cannabis sativa L.* It describes the conditions of these methodologies and which of them presents better yields for the cannabinoids, cannabidiol (CBD), tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) and cannabinol (CBN), the methods of analysis of these and the medicinal uses are also examined. The systematic review was performed in accordance with PRISMA guidelines. The databases used were ScienceDirect, Springer, Scopus and Google Scholar.

It has been reported that the cannabinoids CBD,  $\Delta^9$ -THC and CBN have pharmacological properties which can cover needs in certain pathologies such as cancer, glaucoma, epilepsy, Parkinson's and COVID-19. The supercritical carbon dioxide extraction methodology was found to be the most widely used and the most environmentally friendly. The HPLC-MS and GC-MS methods of analysis proved to be suitable for analyzing the cannabinoids studied in this systematic review.

Keywords: *Cannabis sativa*, cannabinol, cannabidiol, tetrahidrocannabinol, HPLC, GC.

## 1 Introducción

El cannabis también llamado marihuana o cáñamo es una planta perteneciente a la familia Cannabácea<sup>1</sup>, esta planta se puede aprovechar casi en su totalidad, ya que contiene gran variedad de usos como el medicinal, celulosa para papel, fibra textil y entre otros<sup>1</sup>. Las cannabáceas abarca tres principales especies de cannabis las cuales son: *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* y *Cannabis ruderalis*<sup>2</sup>. El constante cruce de estas tres especies para generar plantas híbridas ha dejado el Cannabis en una sola especie *Cannabis sativa*<sup>3</sup>.

*Cannabis sativa* L. (Figura 1) es originaria de Asia y su uso para la producción de fibras textiles data del 4000 a.C, y su uso medicinal data de 2700 a.C.<sup>4</sup>



**Figura 1.** Planta de *Cannabis sativa* L.

En la actualidad la posesión, cultivo o venta de esta planta consta de penalización legal en gran cantidad de países<sup>1</sup>, prácticamente todos los países constan de leyes que regulan el uso recreativo y medicinal de esta planta<sup>1</sup>.

El cultivo de Cannabis es controlado porque requiere unas condiciones ambientales adecuadas para su crecimiento. Estas condiciones incluyen factores ambientales los cuales son la temperatura que debe estar entre 20 °C a 25 °C, humedad relativa entre 60-70%, fotoperíodos que van desde 16 h luz y 8 h oscuridad en etapa de vegetación y 12 h luz y 12 h oscuridad en etapa de floración y una intensidad lumínica que varía entre 400-700 nm<sup>4</sup>. La composición química de *Cannabis sativa* L. se ha estudiado ampliamente y se han identificado aproximadamente 500 compuestos<sup>4</sup>,

entre los cuales se encuentran terpenos, fenoles, aminoácidos, ácidos grasos, hidrocarburos, azúcares y entre otros<sup>5</sup>. Entre estos compuestos se encuentran los cannabinoides que generan gran interés de estudio para la comunidad científica gracias a sus propiedades bioquímicas, hasta el momento se han identificado más de 104 cannabinoides en distintas cepas de cannabis<sup>6</sup>.

Las plantas de cannabis producen naturalmente estos cannabinoides en su forma ácida, que posteriormente gracias a los efectos de la luz y el calor se convierten en sus contrapartes neutrales<sup>7</sup>.

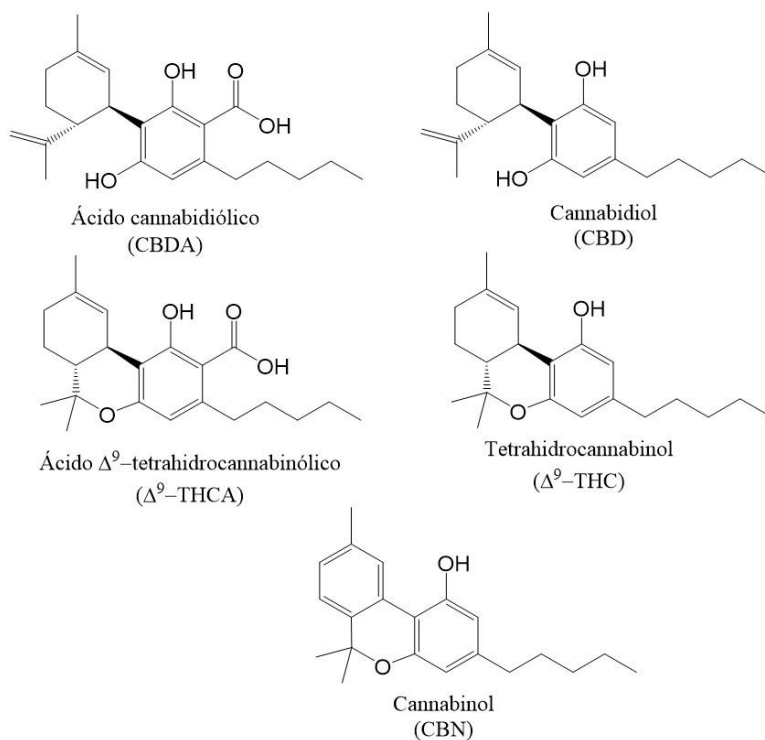
Los principales cannabinoides presentes en el material vegetal fresco de la planta de *Cannabis sativa L.* son los ácidos como el ácido  $\Delta$ 9-tetrahidrocannabinol ( $\Delta$ 9-THCA) y el ácido cannabidiólico (CBDA) y sus formas descarboxiladas  $\Delta$ 9-tetrahidrocannabinol ( $\Delta$ 9-THC) y cannabidiol (CBD)<sup>8,9,10</sup>.

El control de calidad del cannabis para el uso humano se basa en variables que se han establecido en otros países, por ejemplo; la Oficina Holandesa de *Cannabis medicinal*<sup>4</sup>. Considera que las concentraciones de  $\Delta$ 9-THC, CBD y CBN deben ser 100 g por Kg, 1 g por Kg y <10 g por Kg respectivamente en las flores secas<sup>4</sup>. En la Figura 2 se encuentran las estructuras de los cannabinoides CBD, CBN,  $\Delta$ 9-THC de interés en esta revisión sistemática.

La gran mayoría de los cannabinoides presentes en la planta *Cannabis sativa L.* poseen propiedades medicinales<sup>4</sup>, estudio reciente señala que los cannabinoides CBDA y el CBGA ayudan a prevenir el contagio con SARS-CoV-2<sup>11</sup>.

La amplia utilidad que tienen los cannabinoides presentes en la planta de *Cannabis sativa L.* ha generado interés por querer aislarlos, métodos de extracción como lo son la destilación, extracción con solvente, convencional, con fluidos supercríticos<sup>12</sup> entre otros, son de elección a la hora de realizar extractos de cannabinoides, aunque debido a la propiedades fisicoquímicas de los cannabinoides varían los rendimientos de extracción de estos, además algunos de estos métodos de extracción resultan ser bastantes nocivos para el medio ambiente, por lo tanto, esta revisión sistemática tiene como objetivo comparar mediante búsqueda bibliográfica que métodos de extracción usados para aislar cannabinoides en la planta *Cannabis sativa L.* presentan mejores rendimientos; y responder la pregunta ¿Las nuevas metodologías existentes para la extracción y análisis de metabolitos secundarios con base en la química verde resultan ser eficaces y promisorios para la extracción de CBD, CBN y  $\Delta$ 9-THC presentes en la planta *Cannabis sativa L.*?

La revisión sistemática está organizada en 3 capítulos principales, los cuales son: capítulo 1 compuestos presentes en la planta de *Cannabis sativa L.* capítulo 2 métodos de extracción y análisis y finalmente capítulo 3 usos medicinales de los cannabinoides.



**Figura 2.** Cannabinoides principales en sus formas acida y descarboxilada.<sup>8</sup>

## 2 Metodología

### 2.1 Búsqueda bibliográfica

Las búsquedas bibliográficas para esta revisión se realizaron en las bases de datos: Sciencedirect, Springer, Scopus y Google scholar. Las palabras claves que se utilizaron son “*Cannabis sativa*”, “Cannabinol”, “Cannabinoids”, “extraction”, “Extraction”, “CBN”, “CBD” y “THC”. Se incluyeron artículos del año 2010 al 2022.

### 2.2 Criterios de inclusión

Posterior a establecer y aplicar términos de inclusión y exclusión, se realizó un análisis de paso a paso haciendo uso del título, el resumen y el texto completo. Se leyó el resumen si el artículo resulto ser adecuado con el tema de investigación en esta revisión sistemática, o si existían algunas incógnitas acerca de la relevancia para el tema. Del total de artículos leídos, solo los que cumplieron con los criterios de inclusión fueron incluidos en la revisión sistemática.

De los artículos a los que se tuvo acceso, se le aplicaron algunos criterios de inclusión y exclusión para introducir en la revisión sistemática. Se consideraron solo los artículos que analicen extensamente la eficacia de los métodos de extracción y análisis para los cannabinoides CBD, CBN y  $\Delta^9$ -THC presentes en la planta *Cannabis sativa L.* Solo se tuvieron en cuenta artículos publicados en el idioma inglés y/o español.

### 2.3 Análisis de la literatura

La revisión sistemática se realizó de acuerdo con las pautas PRISMA la cual contiene los elementos preferidos para realizar revisiones sistemáticas y meta análisis, Figura 3. Consiste en una lista de verificación de 27 componentes y un diagrama de flujo que instruye en cómo realizar la búsqueda y selección de los artículos en cuatro pasos que son: identificación, selección, elegibilidad e inclusión<sup>13</sup>.

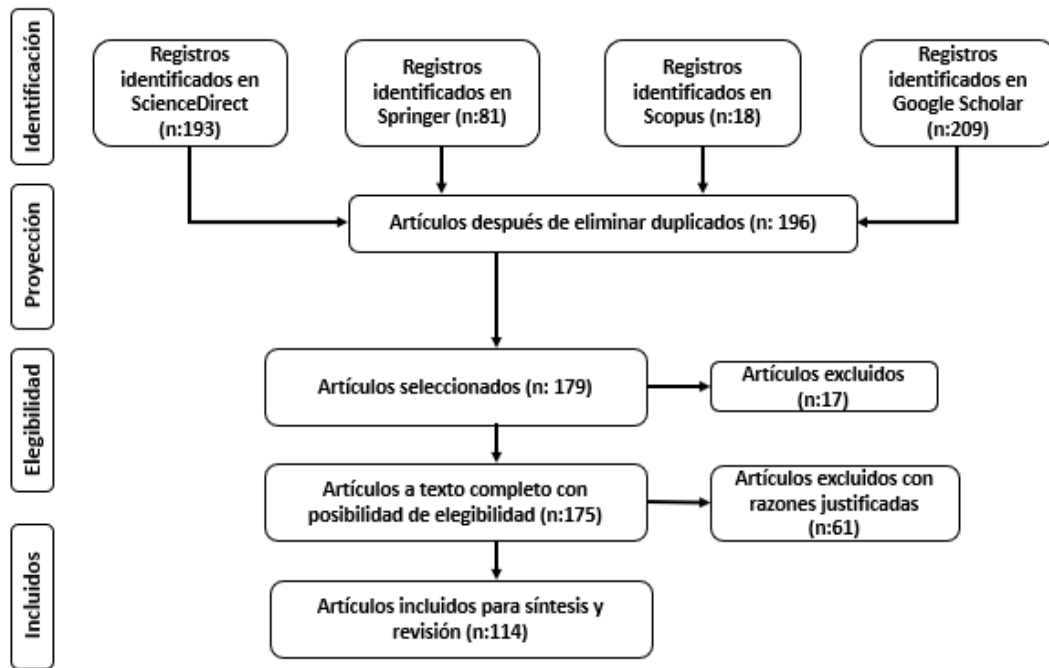


Figura 3. Análisis bibliográfico utilizando el método prisma.

## 3 Resultados: Revisión sistemática

### 3.1 Compuestos presentes en la planta de *Cannabis sativa*.

La planta de *Cannabis sativa* es una planta químicamente compleja, esto debido a su asombrosa biosíntesis de gran cantidad de metabolitos secundarios que pertenecen a diferentes clases químicas. Los compuestos principales y mayoritario de la planta de *Cannabis sativa* se encuentran en la tabla 1.

**Tabla 1.** Principales compuestos de la planta *Cannabis sativa*.

Categoría	Compuestos	Referencia
Cannabinoides	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cannabidiol (CBD)</li> <li>• Cannabinol (CBN)</li> <li>• Δ8-tetrahidrocannabinol (Δ8-THC)</li> <li>• Δ9- tetrahidrocannabinol (Δ9-THC)</li> <li>• Cannabicromeno (CBC)</li> <li>• Ácido tetrahidrocannabinolico (THCAA)</li> <li>• Cannabinogerol (CBG)</li> <li>• Tetrahidrocannabivarina (THCV)</li> <li>• Cannabidivarina (CBDV)</li> <li>• Cannabitriol (CBT)</li> <li>• Δ9-tetrahidrocannabiforol (Δ9-THCP)</li> <li>• Δ9-tetrahidrocannabutol (Δ9-THCB)</li> <li>• Cannabidibutol (CBDB)</li> <li>• Cannabitwinol (CBDD)</li> <li>• (-)-trans-cannabidihexol ((-)-trans-CBDH)</li> <li>• (-)-trans-Δ9-tetrahidrocannabihexol ((-)-trans-Δ9-THCH)</li> <li>• Éter monometílico de cannabinogerol (CBGM)</li> <li>• Éter monometílico de cannabidiol ((-)-trans- CBDM)</li> <li>• Éter monometílico de tetrahidrocannabinol ((-)-trans-Δ9-THCM)</li> </ul>	14
Terpenos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• β-mircenio</li> <li>• β-cariofileno</li> <li>• Limoneno</li> <li>• Pineno</li> <li>• Linalool</li> <li>• Bisabolol</li> </ul>	14
Flavonoides	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cannflavina A</li> <li>• Cannflavina B</li> <li>• Cannflavina C</li> </ul>	14,15
Estilbenoides	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cannipreno</li> <li>• Denbinobin</li> <li>• Canitreno 1</li> <li>• Canitreno 2</li> </ul>	15

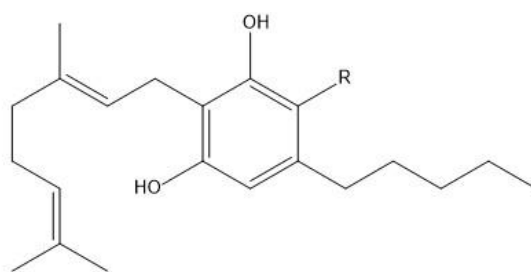
Alcaloides	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Trigonelina</li> <li>• Piperdina</li> <li>• Pirrolidina</li> <li>• (+)-Cannabisativina</li> <li>• Anhidrocannabisativina</li> <li>• Hordenina</li> <li>• Muscarina</li> <li>• L-(+)-Isolecina-betaina</li> <li>• Neurina</li> <li>• Colina</li> </ul>	16
------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

### 3.1.1 Cannabinoides

Los cannabinoides son los compuestos principales de la planta *Cannabis sativa L.* son uno de los principales motivos por el cual genera gran interés de estudio científico<sup>14</sup>.

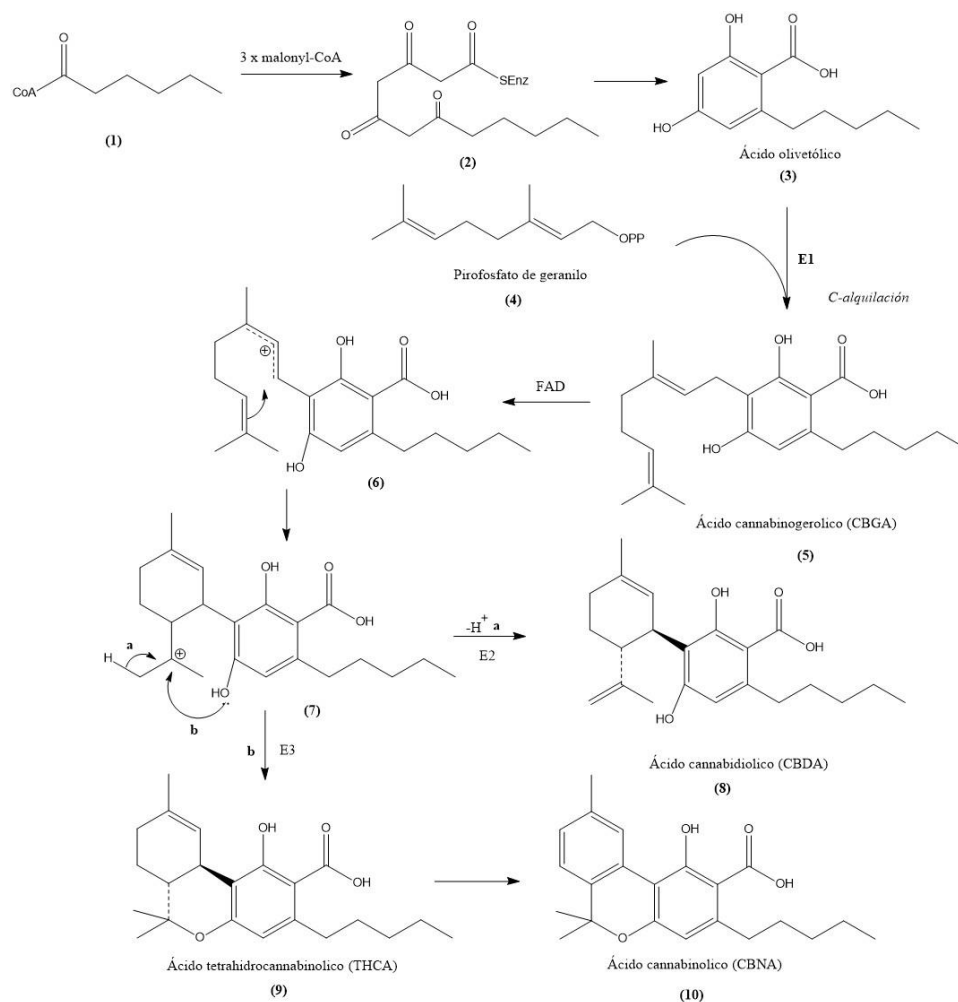
Los cannabinoides es posible dividirlos en tres grupos, los cuales son: endocannabinoides, fitocannabinoides y cannabinoides sintéticos. Los endocannabinoides son producidos por la gran mayoría del reino animalia<sup>17</sup> y los fitocannabinoides son producidos naturalmente por la planta de *Cannabis*<sup>18</sup>.

La biosíntesis de los cannabinoides comienza principalmente con la formación del ácido cannabigerólico (CBGA (Figura 4)) el cual posterior se transformará en ácido tetrahidrocannabinólico (THCA), ácido cannabidiólico (CBDA) y el ácido cannabícroménico (CBCA)<sup>19</sup>.



1. R=COOH Ácido cannabigerólico (CBGA)
2. R=H Cannabigerol (CBG)

**Figura 4.** Estructura de CBGA y CBG<sup>19</sup>.



**Figura 5.** Biosíntesis de las formas ácidas de los cannabinoides<sup>20-22</sup>

El  $\Delta^9$ -THC, CBD, CBG y CBN son los principales cannabinoides presentes en la planta, el  $\Delta^9$ -THC es el compuesto por el cual se le clasifica como droga ilícita al *Cannabis sativa*<sup>23</sup>. El CBD se encuentra en mayoría en el cáñamo, este posee propiedades medicinales y se está volviendo más importante para uso medicinal<sup>23</sup>.

La biosíntesis de los cannabinoides inicia principalmente con dos precursores los cuales llevan a dos rutas biosintéticas diferentes (Figura 5), la ruta del acetato la cual conduce a la formación del ácido olivetólico (3), y la ruta del mevalonato que orienta a la formación de pirofosfato de geranilo (4), posterior sucede la C-alkilación la cual se cataliza por una sintasa, del ácido olivetólico (3) y el pirofosfato de geranilo, dan como producto el CBGA (8) el cual es el precursor central de gran variedad de cannabinoides<sup>20</sup>, los cuales se forma como ácidos carboxílicos por ejemplos; las formas ácidas del  $\Delta^9$ -THC, CBD, CBC; las cuales son: ácido tetrahidrocannabinólico ( $\Delta^9$ -THCA), ácido cannabidiólico (CBDA) y el ácido cannabidroménico (CBCA) respectivamente, estos compuestos al calentarse o a la exposición de la luz se descarboxilan a su correspondiente neutro; otro proceso el cual no es causado por el calentamiento o la exposición a la luz es la degradación oxidativa que da lugar a la conversión del  $\Delta^9$ -THC en cannabino (CBN) y también a la isomerización del mismo

dando lugar a  $\Delta 8$ -tetrahidrocannabinol ( $\Delta 8$ -THC). Las concentraciones de ácido cannabínico (CBNA) y CBN, los cuales son los degradantes primarios del  $\Delta 9$ -THCA y  $\Delta 9$ -THC aumentan con el tiempo de almacenamiento<sup>15</sup>.

La producción de cannabinoides en el cáñamo puede variar debido a diversos factores bióticos y abióticos, como lo son el sexo y la madurez de la planta, la integral de luz diaria, la temperatura ambiente, la cantidad de nutrientes que tiene a su disponibilidad y la intensidad de la luz ultravioleta<sup>24</sup>.

Las concentraciones de cannabinoides en la planta de *Cannabis sativa* varía dependiendo de la parte de la planta, se encontró que en las células secretorias dentro de los tricomas (Figura 6) glandulares contienen hasta un 60%<sup>19</sup>. Se halló que en las raíces y las semillas no poseen cannabinoides<sup>16</sup>. Se ha demostrado que exponer la planta a ciertas condiciones de estrés como lo es la infestación por el ácaro *Tetranychus urticae* aumenta las concentraciones de cannabinoides producidos por la planta; CBNA,  $\Delta 9$ -THC, CBD y CBC en un 116%, 123%, 125% y 146% respectivamente<sup>25</sup>.



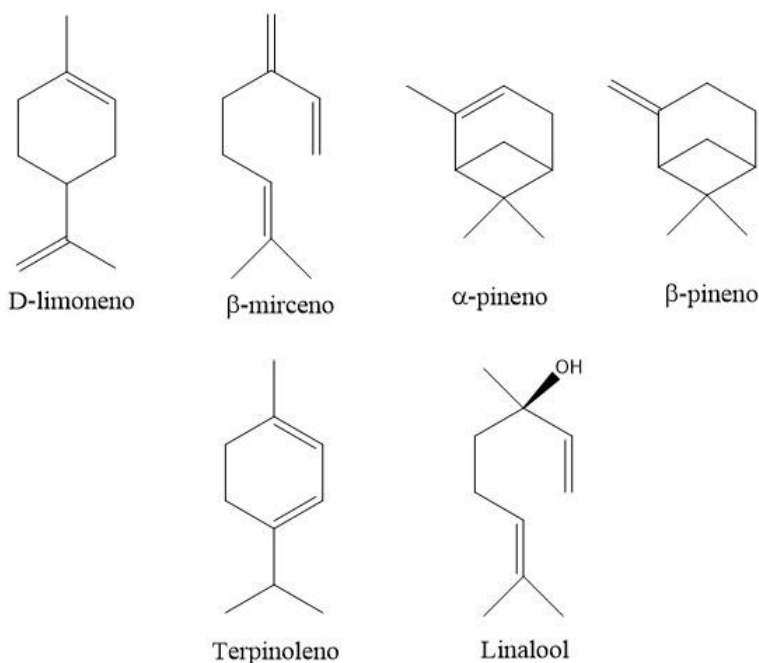
**Figura 6.** Tricomas de *Cannabis sativa* L<sup>19</sup>.

Para realizar extractos de cannabinoides es de preferencia que la planta sea de sexo femenino, ya que la planta hembra madura produce mayores cantidades de cannabinoides además se logra también un mayor rendimiento si se cultiva sin plantas macho a sus alrededores, esto con el fin de evitar la polinización y la formación de semillas<sup>15</sup>.

### 3.1.2 Terpenos

Los terpenos son compuestos hidrocarburos aromáticos que utilizan las plantas para disuadir a los herbívoros<sup>26</sup>. Los terpenos son los compuestos responsables que le generan olor y sabor de distintas variedades de cannabis, con base en ello se han seleccionado cepas narcóticas de Cannabis bajo la domesticación humana<sup>27</sup>. En la planta de cannabis el rendimiento y distribución de terpenos dependen de gran variedad de parámetros, como lo son el método de obtención del aceite esencial, las condiciones ambientales, por último y no menos importante la madurez de la planta<sup>26</sup>.

Se han detectado terpenos en las flores, raíces y hojas de Cannabis, al igual que los cannabinoides el principal sitio de producción de terpenos son los pelos glandulares. El perfil de terpenos volátiles está dominado generalmente por los monoterpenos, los cuales son generalmente D-limoneno,  $\beta$ -mirceneno,  $\alpha$ - y  $\beta$ -pineno, terpinoleno y linalool (Figura 7)<sup>28</sup>.



**Figura 7.** Terpenos presentes en el cannabis<sup>14,26</sup>.

Los terpenos en conjunto con los cannabinoides se han utilizado como marcadores quimiotaconómicos en cannabis, esto debido a que son los abundantes metabolitos secundarios fisiológicamente activos<sup>28,29</sup>.

### 3.1.3 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son un grupo de metabolitos secundarios que están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Presentan alrededor de 10.000 compuestos diferentes, los cuales incluyen ácidos fenólicos, ácidos benzoicos e hidroxicinámico, flavonoides como flavonoles y flavonolas, estilbenos, y lignanos<sup>30</sup>.

En el cannabis se han encontrado gran variedad de compuestos fenólicos, se han identificado alrededor de 20 flavonoides, principalmente pertenecientes a las subclases de flavonas y flavonoles<sup>31</sup>. Los compuestos fenólicos presentes en el cannabis incluyen *O*-versiones de glucósidos de las agliconas apigenina, luteolina, kaempferol y quercetina, también cannflavina A y cannflavina B, que son flavonas isoprenoides metiladas las cuales solo están presentes en el cannabis<sup>32</sup>, también se han descrito amidas fenólicas y lignanamidas en frutos y raíces de cannabis<sup>33</sup>.

### 3.2 Métodos de extracción de cannabinoides.

Entre las metodologías más utilizadas para la extracción de cannabinoides se encuentran la extracción con solvente, fluido supercríticos, extracción por maceración, extracción soxhlet, hidrodestilación, extracciones convencionales e incluso se ha utilizado extracción subcrítica promovida por butano<sup>34-36</sup>.

**Tabla 2.** Métodos de extracción para cannabinoides.

Método de extracción	Compuesto	Solvente	Referencia
scCO <sub>2</sub>	CBDA, CBD, Δ9-THC, Δ9-THCA, Δ8-THC, CBN y terpenos	CO <sub>2</sub> -EtOH	34,37-47
Extracción con solvente		Propano casi crítico y dimetiléter (DME)	37
		Metanol	46,48-50
		EtOH, diclorometano, cloroformo, tolueno y trimetilpenteno	42
		Butano y propano	42
Extracción Soxhlet	THC, CBD y CBN	Hexano, acetato de etilo y EtOH	41,46
Extracción con solvente asistida por microondas Extracción mediante el uso de maquina espresso de tapa dura	CBDA, CBD, CBGA y CBG	EtOH	38
Extracción con solvente asistida por microondas Extracción mediante el uso de maquina espresso de tapa dura	THC, CBD, CBN, CBDA, CBC, CBD, CBGA y CBG	2-propanol	51
		EtOH	38
		EtOH y Hexano	52

Extracción con solvente (maceración dinámica (DM))			
Sub-CO <sub>2</sub>	No específica	CO <sub>2</sub>	53

La extracción de los compuestos bioactivos y aceites esenciales del cannabis tiene como único objetivo ser usado para consumo humano, bien sea para alimentos, fármacos y uso recreativo es por eso que el método de extracción de fluidos supercríticos ha ganado gran interés para la extracción de componentes bioactivos y aceites esenciales, ya que evita el uso de solventes tóxicos y ayuda a disminuir la degradación térmica de la muestra<sup>54</sup>. Con alta temperatura y presión, el fluido se convierte en fluido supercrítico. Este último es un estado donde no se distingue el gas del líquido. El CO<sub>2</sub> en estado supercrítico posee una densidad con gran similitud a la de un líquido y además posee una viscosidad similar a la de un gas<sup>55</sup>. El CO<sub>2</sub> se usa como principal solvente en la extracción con fluidos supercríticos debido a que este compuesto es económico y fácil de reciclar. El CO<sub>2</sub> supercrítico (scCO<sub>2</sub>) tiene buena humectabilidad y poder de difusión<sup>56</sup>.

Fernández et. al<sup>34</sup> en su estudio demostraron que para la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico se logra la máxima recuperación de THC con las siguientes condiciones: 70 °C, 300 bar y 10% de EtOH; mientras que para la máxima recuperación de CBD las condiciones fueron las siguientes 60 °C, 300 bar y 10 % de EtOH<sup>34</sup>. Se ha demostrado que añadir un agente de arrastre polar como lo es el EtOH al CO<sub>2</sub> supercrítico aumenta la extracción de cannabinoides, en especial en la forma acida de los cannabinoides<sup>41,57,58</sup>.

Umut y Ezgi<sup>39</sup> realizaron extracciones de THC y CBD mediante fluidos supercríticos, en el cual varían diferentes parámetros de extracción como lo son: presión, temperatura y efecto del codisolevente, en la tabla 3 se observan los datos de rendimiento, CBD y THC que obtuvieron en estudio, en las condiciones de extracción se utilizó 2% en peso de etanol en las condiciones de prueba I a V<sup>39</sup>. El aumento de la presión a una temperatura constante hace que la solubilidad de los cannabinoides mejore<sup>59</sup>. En el estudio de Umut y Ezgi<sup>39</sup> obtuvieron el máximo rendimiento de extracción en la condición de extracción III, pero logran la máxima extracción de THC en la condición de extracción I.

**Tabla 3.** Rendimientos de extracción con el método de fluidos supercríticos a diferentes condiciones<sup>39</sup>.

Condiciones de extracción	Rendimiento (%)	CBD (%)	THC (%)
I (33 MPa, 60° C)	8,4 ± 0,4	0,27 ± 0,03	30,00 ± 0,09
II (15 MPa, 60° C)	6,5 ± 0,8	1,93 ± 0,06	< LOD
III (33 MPa, 40° C)	9,7 ± 0,7	2,15 ± 0,07	27,12 ± 1,27
IV (15 MPa, 40° C)	6,9 ± 0,5	0,50 ± 0,04	< LOD
V (15 MPa, 40° C)	2,7 ± 0,2	1,17 ± 0,11	< LOD
VI (15 MPa, 60° C)	2,7 ± 0,2	0,92 ± 0,04	< LOD
VII (33 MPa, 40° C)	6,9 ± 0,9	0,73 ± 0,03	< LOD

VIII (33 MPa, 60° C)	5,0 ± 0,8	0,74 ± 0,04	< LOD
----------------------	-----------	-------------	-------

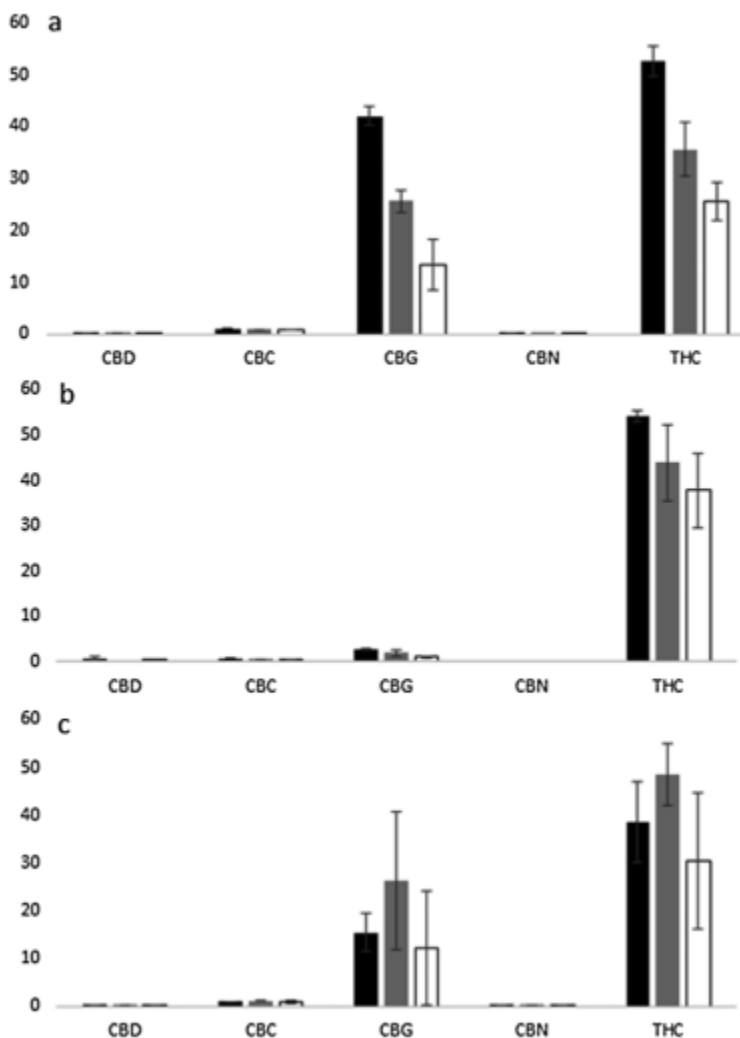
También se ha reportado en la literatura el uso de CO<sub>2</sub> subcrítico (líquido) esto se realizó con el fin de disminuir la presión de vapor de los compuestos terpénicos y las coextracciones de ceras<sup>53</sup>. También se reporta en la literatura el uso de butano y propano para la extracción de cannabinoides, el butano y el propano a temperatura ambiente se encuentran en estado gaseoso, pero al comprimirse pasa a estado líquido para facilitar la extracción. La naturaleza de estos solventes puede extraer cannabinoides y terpenoides de manera eficiente debido a su moderada polaridad<sup>42</sup>. Los cannabinoides extraídos utilizando butano y propano como disolventes se le llaman aceite de hachís de butano (BHO) y aceite de hachís de propano (PHO), respectivamente<sup>60</sup>. La extracción con el uso de butano y propano es similar a la extracción con CO<sub>2</sub> líquido. La extracción con butano y propano posee ciertas ventajas contra la extracción con CO<sub>2</sub> líquido, ya que produce contenidos más significativos de terpenoides, lo cual mejora el sabor del extracto<sup>61</sup>. Estos métodos de extracción basados en butano y propano poseen ciertas desventajas las cuales son la presencia de trazas tóxicas de estos gases en los extractos y no menos importante la inflamabilidad de estos compuestos<sup>62</sup>.

La extracción por maceración dinámica (DM) es una de las técnicas más simples que se pueden utilizar para la extracción de compuestos bioactivos del cannabis, la cual consiste en maceración fina del material vegetal y posterior poner en agitación con solvente. Virginia, Federica, Marleen, Davide y Estefania<sup>38</sup> en su estudio utilizaron esta técnica con el fin de extraer compuestos no psicoactivos de inflorescencias de cáñamo, utilizaron como solvente EtOH a temperatura ambiente, los resultados de la extracción fueron: 24 mg/g, 1 mg/g, 3 mg/g, de CBDA, CBGA y CBD respectivamente<sup>38</sup>.

Uno de los métodos de extracción más simples que se puede utilizar es el método de extracción convencional, el cual consiste en calentar el solvente de elección en conjunto con la matriz que posee los compuestos a extraer, se le pueden añadir ciertas técnicas con el fin de mejorar la extracción, una de ellas es el uso de microondas, esta posee ciertas ventajas frente a la extracción convencional las cuales son: el calentamiento uniforme, menor tiempo de extracción, alto rendimiento, uso más económico de solvente y el enfoque ecológico<sup>38,49</sup>. Las microondas se pueden utilizar en conjunto con otras técnicas como lo son la extracción con solvente, la extracción Soxhlet y la destilación<sup>63</sup>; también es importante resaltar que la extracción asistida por microondas es un método respetuoso con el medio ambiente, ya que reduce el consumo de solvente y energía, además de otros peligros ambientales, como los residuos químicos<sup>64</sup>.

Virginia et. al<sup>38</sup> en su estudio también utilizaron un método de extracción asistido por ultrasonido en el cual utilizaron como solvente EtOH y dejaron en baño de ultrasonido. Este método de extracción resultó tener valores de extracción menores al método de extracción por maceración dinámica<sup>38</sup>.

Dvory et. al<sup>52</sup> en su estudio realizaron extracción con solventes de inflorescencias a lo largo del tallo, en el estudio se puede evidenciar como varía la concentración de cannabinoides y terpenos a lo largo del tallo. En la Figura 8 se puede evidenciar que la combinación de EtOH y hexano logran el máximo rendimiento en la extracción de terpenos, además se evidencia que las inflorescencias de la parte superior son las más ricas en terpenos<sup>52</sup>.



**Figura 8.** Comparación de diferentes disolventes y sus efectos en las cantidades (mg mL<sup>-1</sup>) de cannabinoides extraídos. (a) Extracción con EtOH. (b) Extracción con n-hexano. (c) Extracción con hexano-EtOH (7:3 v:v). Columna negra: inflorescencia superior, columna gris: inflorescencia media, columna blanca: inflorescencia inferior<sup>52</sup>.

Leiman et. al<sup>51</sup> mediante el uso de una máquina de café Nespresso Essenza, implementaron un método de extracción rápida, el cual utiliza como solvente 2-propanol y se realiza en 40 segundos; este método resulta ser una buena alternativa para realizar determinación precisa del nivel de concentración de THC y en un tiempo corto<sup>51</sup>.

### 3.3 Métodos de análisis de cannabinoides

Los métodos de análisis más utilizados para la determinación de cannabinoides incluyen la cromatografía líquida (LC, HPLC y UPLC), cromatografía de gases (GC)<sup>65</sup>, espectrometría de masas (MS)<sup>66,67</sup>, esta última es prescrita por las autoridades para el análisis reglamentario de muestras cultivadas e incautadas<sup>68</sup>.

La cromatografía de gases normalmente se completa en alrededor de 20 minutos a temperatura de 300 °C y se utilizan fases estacionarias con muy baja polaridad, como 5 % de difenil y 98 % de dimetil polisiloxano<sup>69</sup>.

En GC cuando se realiza la fase de inyección los cannabinoides que están en fase ácida (por ejemplo: CBDA, THCA y CBCA) se descarboxilan, esto debido a las altas temperaturas en el puerto de inyección, por ende, este método no es idóneo para determinar cannabinoides en forma ácidas<sup>65,70</sup>. HPLC es la técnica de opción lógica para el análisis de cannabinoides en forma ácida ya que la preparación se limita a la extracción y eventual dilución previamente de la inyección.

**Tabla 4.** Propiedades del método GC-MS para analizar cannabinoides

Columna	Cannabinoides analizados	Proceso de horno	Fase móvil	Referencia
5 % de fenil reticulado columna capilar de metil siloxano	CBG, CBD, CBN, THC, CBC, CBDA, CBGA y THCA	50 °C inicial, 6 °C/min hasta 300 °C se mantuvo por 4 minutos	Helio	71
5 % difenilo/95 % de dimetilpolisiloxano columna capilar	THC-THCA	70 °C inicial, 40 °C/min hasta 180 °C, después 10 °C/min hasta 300 °C se mantuvo por 6,25 minutos	Helio	72
Poli-5 % reticulado difenilo-95 % de dimetilpolisiloxano columna capilar	CBD-CBDA	45 °C inicial, 2 °C/min hasta 100 °C, después 5 °C/min hasta 250 °C se mantuvo por 5 minutos	Helio	73
5 % reticulado fenilmetil siloxano columna capilar	CBG, CBD, THC, CBC y CBN	50 °C inicial, 6 °C/min hasta 300 °C se mantuvo por 4 minutos	Helio	74

Columna capilar de sílice fundida	THC, CBD y CBN	120 °C inicial, 20 °C/min hasta 290 °C se mantuvo por 10 minutos	Helio	75
Restek Rxi-35Sil MS de 30 m (35 % silifenileno)	CBD, CBDA, THC, THCA, CBN, CBG, CBGA, CBDV, THCV y CBC.	60 °C inicial, 25 °C/min hasta 220 °C, se mantuvo 10 minutos. Luego 10 °C/min hasta 330 °C se mantuvo 15 minutos.	Helio	

Leghissa et. al<sup>76</sup> realizaron un estudio en el cual se utilizó cromatografía de gases con espectroscopia ultravioleta al vacío (GC-VUV), en este estudio se realizó la detección de cannabinoides de manera rápida y sencilla, este método resulta ser adecuado para la detección de cannabinoides sin tener una línea de base de comparación de los cannabinoides. Este método presentó una desventaja la cual es el límite de detección (LOD), este resultado ser muy alto, lo cual deja este método por fuera para la detección de analitos en matrices biológicas sin un previo tratamiento<sup>76</sup>.

Mitja Križman en su estudio realizado determino que las columnas más idóneas para el análisis de cannabinoides son las columnas C18, también evaluaron la influencia de la fase móvil y se determinó que cuando se usa acetonitrilo como eluyente los cannabinoides CBDA, CBGA, CBG y CBD aparecen como un cuartero de picos<sup>70</sup>. Mitja Križman también determino que la temperatura óptima para mejorar la selectividad entre el grupo de picos de CBDA, CBGA, CBG y CBD es de 37°C<sup>70</sup>.

En cuanto a la detección los cannabinoides presentan dos o más picos de absorción en la región UV<sup>65</sup>, Mitja Križman menciona en su estudio que la absorción más grande para la mayoría de ellos está en 228 nm o cerca de este<sup>70</sup>.

Manuela Pellegrini et. al<sup>75</sup> utilizaron la cromatografía de gases-espectrometría de masas para determinar cannabinoides en productos alimenticios de cáñamo en el cual utilizaron de muestras solidas pastillas, semillas y hierbas aromáticas; y como muestras líquidas utilizaron cerveza, licor y aceite; utilizaron una columna capilar de sílice fundida y se utilizó Helio como gas portador. Obtuvieron resultados de CBD y CBN más bajos que de THC aun el contenido de THC nunca sobrepaso el 0,2 % indicado por la unión europea para el cultivo de cáñamo para permitir la distribución de alimentos de cáñamo, finalmente obtuvieron un método rápido y de simple extracción que permite la determinación de THC, CBD y CBN en productos alimenticios<sup>75</sup>.

Entre el 2015 y 2017 Laura A. Ciolino et. al<sup>77</sup> aplicaron un método de GC-MS alrededor de 60 productos comerciales de cannabis entre los cuales estaban incluidos pomadas, suplementos orales, alimentos, dulces, bebidas. Las condiciones fueron las siguientes: columna Restek Rxi-35Sil MS de 30 m (35 % silifenileno), el gas portador fue Helio y el programa de horno fue 60 °C inicial, 25 °C/min hasta 220 °C, se mantuvo 10 minutos. Luego 10 °C/min hasta 330 °C se mantuvo 15 minutos. Obtuvieron que en la gran mayoría de los productos analizados el cannabinoide predominante fue el CBD, además para muchos de los productos el extractante adecuado fue etanol al 95 %, pero al ser productos de consumo/uso humano encontraron varias interferencias como lo fueron azúcar, glicerina inclusive productos con alto contenido de lactosa. Finalmente establecieron que el contenido mínimo detectable para los cannabinoides (CBD, CBDA, THC, THCA, CBN) fue de 1,0 mg/g en todas las muestras, el método resulto ser adecuado para analizar cannabinoides tanto en su forma ácida como neutra además aborda múltiples interferencias que no se encuentran en las muestras tradicionales<sup>77</sup>.

**Tabla 5.** Propiedades del método HPLC para analizar cannabinoides

Columna	Cannabinoides analizados	Fase móvil	Caudal (mL/min)	Referencia
Columna C18	THCA, CBGA, CBCA, THC, CBG y CBC	Metanol y agua, acidificado con ácido fórmico	0,5	78
Columna C18	CBDA, CBGA, CBD Y CBG	Ácido fórmico 1 % en (I) H <sub>2</sub> O y (II) ACN	0,4	79
Columna C18	CBDA y CBD	Ácido fórmico 1 % en (I) H <sub>2</sub> O y (II) ACN	0,4	73
Columna con tapa C18 con precolumna	CBG, CBD, THC, CBC y CBN	15 % de ácido acético en agua y metanol.	1,5	74
Phenomenex Kinetex XB-C18	CBDA, CBGA, CBDV, THCA, CBG, CBD, CBN y THC	Agua pura y ACN	0,8	80
Kinetex C18 con precolumna	CBD, THCV, CBG, CBN, THC y THCA	(A) Agua y ácido fórmico al 0,1 % (B) MeOH y ácido fórmico al 0,1 %	0,25	81

Zorbax C18	CBD, CBN y THC	Metanol y agua ultrapura (85:15)	1,0	47
Kinetex C18	CBDA, THCV, CBD, CBG, CBN, THCA, THC y CBC	(A) Formiato de amonio 10 mM (B) ACN	0,6	82,83
Poroshell 120 EC-C18		(A) Ácido fórmico al 0,1 % en agua (B) Ácido fórmico al 0,1 % en ACN		84,85
Zorbax C18	CBDA, CBD, CBN, THC y THCA	(A) Ácido acético al 0,1 % y acetato de amonio 10 mmol/L en metanol acuoso al 5 % (B) Metanol al 5 % en acetonitrilo	0,4	86
Agilent Poroshell 120 SB-C18	CBGA, CBG, CBDA, CBD, CBDB, THCA, THC y CBN	No especifica	No especifica	87-89
Eurospher II 100-05 (NH <sub>2</sub> )	CBDV, CBG, CBD, CBN, THC y CBC	95 % / 5 % (I) Hept/IPa (II) Hept/EtOH (III) Hex/ IPa (IV) Hex/EtOH	1	90
Eurospher II 100-05 (Diol)	CBDV, CBG, CBD, CBN, THC y CBC	95 % / 5 % (I) Hept/IPa (II) Hept/EtOH (III) Hex/ IPa (IV) Hex/EtOH	1	90

Eurospher II 100-05 (CN)	CBDV, CBG, CBD, CBN, THC y CBC	95 % / 5 % (I) Hept/IPa (II) Hept/EtOH (III) Hex/ IPa (IV) Hex/EtOH	1	90
Eurospher II 100-05 (Si)	CBDV, CBG, CBD, CBN, THC y CBC	95 % / 5 % (I) Hept/IPa (II) Hept/EtOH (III) Hex/ IPa (IV) Hex/EtOH	1	90

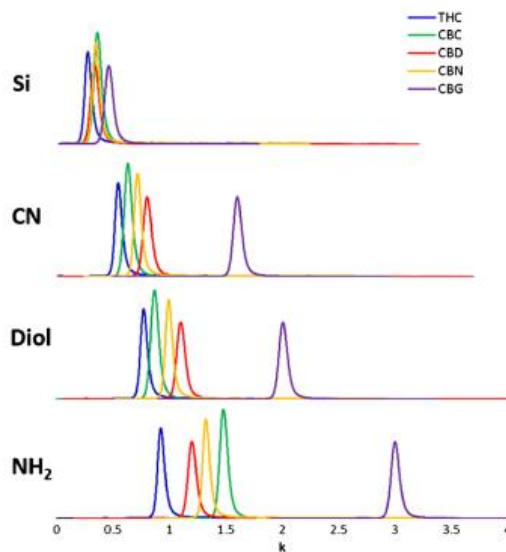
Sanja Zivovinovic et. al<sup>80</sup> realizaron un estudio en el cual se determina cannabinoides de muestras para fines recreativos por medio de cromatografía líquida de fase reversa acoplado a UV, en este estudio utilizaron el método HPLC y UHPLC; se logró la separación en 10 minutos de los ocho cannabinoides utilizando la columna de HPLC Kinetex XB-C18, el tiempo total de ejecución de este método fue de 20 minutos<sup>80</sup>. La cuantificación de THC/THCA fue más satisfactoria para el método HPLC que para el método GC<sup>80</sup>.

En el estudio realizado por Oier Aizpurua-Olaizola et. al<sup>81</sup> se identificó y cuantificó 6 cannabinoides por el método de cromatografía líquida tandem espectrometría de masa con triple cuadrupolo (HPLC-MS/MS), mediante este método pudieron determinar los principales cannabinoides de los extractos obtenidos por extracción con fluidos supercríticos, también lograron identificar 7 cannabinoides minoritarios por el método de UPLC-qToF los cuales fueron ácido cannabicumarico, CBCA, 10-ethoxy-9-hidroxi- $\Delta^6$ -THC, 4-acetoxicannabichromero, CBGA, monometileter de ácido cannabinogerolico (CBGAM), THCA-C4<sup>81</sup>.

Erin C. Berthold et. al<sup>91</sup> realizaron un estudio en el cual el objetivo fue detectar y cuantificar doce cannabinoides (CBDV, THCV, CBN, CBC, CBD, CBL, CBG, THCA, CBDA, CBGA) presente en la planta de *Cannabis sativa* el estudio se realizó por medio de UPLC-MS/MS, la separación se llevó a en una columna C18, la fase móvil estuvo compuesta por agua que contenía ácido fórmico al 0,1 % (A) y metanol y acenotrinilo (50:50, v/v) (B), el caudal fue de 0,35 mL/min<sup>91</sup>. En este estudio pudieron implementar y validar el método desarrollado para los análisis de muestras de cáñamo industrial y se determinó que es un método rápido, confiable y robusto, el método tenía un tiempo de ejecución de 6 minutos, lo cual no permitía la separación cromatográfica del CBD y el CBG, esto fue resuelto gracias a la detección masiva de patrones de fragmentación únicos atribuibles a cada cannabinoide<sup>91</sup>.

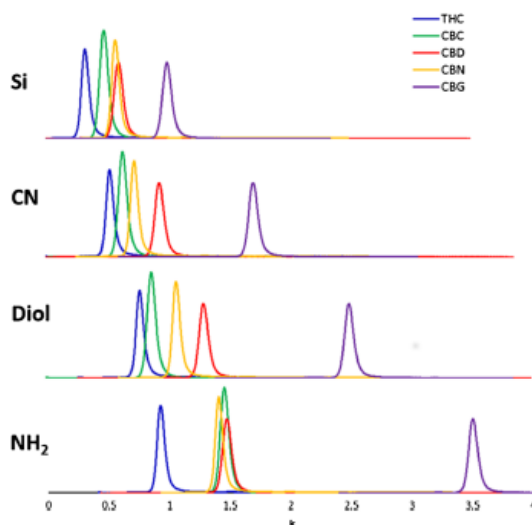
Chiara De Luca et. al<sup>90</sup> realizaron un estudio con el fin de investigar cómo influye la polaridad de la fase estacionaria y la fase móvil sobre la retención de los cannabinoides en cromatografía líquida en fase normal. Utilizaron cuatro columnas Eurospher II 100-05 empaquetadas con NH<sub>2</sub>, diol, CN

y Si (sílice desnuda); también utilizaron cuatro composiciones diferentes para la fase móvil 95 % / 5 % (I) Hept/IPa, (II) Hept/EtOH, (III) Hex/ IPa y (IV) Hex/EtOH. En la Figura 9 se puede apreciar cómo influye la polaridad de la columna en la retención de los cannabinoides<sup>90</sup>.



**Figura 9.** Cromatograma obtenido con la mezcla estándar de cinco cannabinoides (THC, CBC, CBD, CBN, CBG, 10  $\mu\text{g/mL}$ ) con 95:5% v/v heptano/isopropanol<sup>90</sup>.

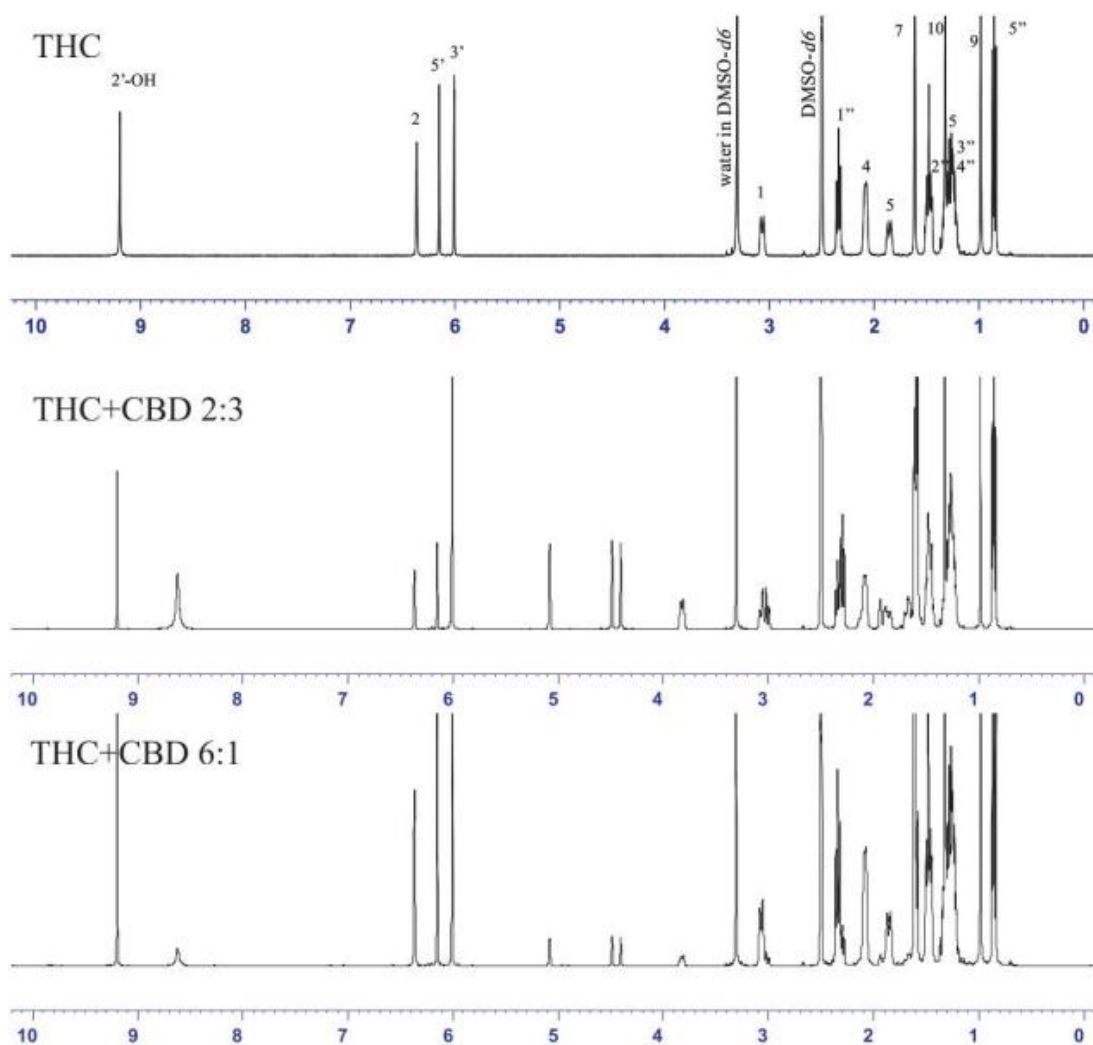
En la Figura 10 se observa la influencia de la polaridad de las columnas y la fase móvil en la retención de los cannabinoides.



**Figura 10.** Cromatograma obtenido con la mezcla estándar de cinco cannabinoides (THC, CBC, CBD, CBN, CBG, 10  $\mu\text{g/mL}$ ) con 95:5% v/v heptano/etanol<sup>90</sup>.

En resumen, el estudio realizado por Chiara De Luca et. al<sup>90</sup> demuestra que la retención global de las columnas en las cuatro fases estacionarias fue  $\text{NH}_2 > \text{diol} > \text{CN} > \text{Si}$ <sup>90</sup>.

Wieland Peschel y Matteo Politi<sup>92</sup> utilizaron los métodos de RMN H y HPLC/DAD con el fin de realizar la distinción de quimiotipos de cannabis, en el estudio utilizaron cuatro diferentes muestras de cannabis, las cuatro muestras se obtuvieron con acetato de etilo y etanol al 40 %<sup>92</sup>. Los espectros del análisis de RMN H se reconocieron entre 0 y 14 ppm de desplazamiento químico, en la Figura 11 se puede observar la asignación de los principales picos cualitativos de los cannabinoides<sup>92</sup>.



**Figura 11.** Espectros RMN H de cannabinoides<sup>92</sup>.

Dado que el cannabis es el alucinógeno ilícito más consumida en el mundo, han surgido necesidades de tener métodos de análisis de sus principales componentes psicoactivos en matrices biológicas convencionales y no convencionales<sup>93</sup>. Stefan König et. al<sup>83</sup> establecieron un método de

extracción en fase sólida (SPE) y método de análisis LC-MS/MS para la cuantificación de THC y sus principales metabolitos en sangre periférica humana<sup>83</sup>. La precipitación de las proteínas fue realizada con acetonitrilo, el proceso se realizó inyectando las muestras en una columna SPE y posterior se inyectaron en una columna C18 para el análisis.

Athina G. Nicolaoua et. al<sup>94</sup> desarrollaron un método para la identificación y cuantificación de THC y cuatro cannabinoides principales en cerumen mediante UPLC-MS/MS, la columna que seleccionaron para el método fue una columna C18, utilizaron como fase móvil ácido fórmico al 0,1 % como fase A y acetonitrilo acidificado con ácido fórmico al 0,1 % como fase B y utilizaron un caudal de 0,35 mL/min; la recolección de las muestras fue realizada con isopos de algodón en ambas orejas de voluntarios. Todos los cannabinoides en estudio se resolvieron cromatográficamente en un tiempo de 4,5 min, finalmente en este estudio demostraron que el cerumen puede ser una matriz alternativa para los análisis forenses, además este es el primer estudio en que detectan THC en esta secreción<sup>94</sup>.

En el 2018 C. Sánchez-Carnerero Calladoa et. al<sup>95</sup> por primera vez implementaron un método para la determinación cuantitativa de cannabinoides basado en espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR) y espectroscopia de infrarrojo cercano por transformada de Fourier (FT NIR), este método resulto tener un tiempo menor de ejecución y robusto, además resulta ser una técnica donde la muestra se mide con poco o ningún tipo de pretratamiento (molienda y secado)<sup>95</sup>.

### 3.4 Usos del CBD, THC y CBN.

Desde tiempos inmemorables, la planta de *Cannabis sativa* ha sido utilizada para diferentes fines, como fuente de fibra, fármaco a base de hierbas, fines medicinales y también religiosos<sup>96</sup>.

En el siglo XIX, O'Shaughnessy y Moreau<sup>97</sup> realizaron estudio donde informaron acerca de las propiedades positivas del cannabis sobre los espasmos musculares, el vómito, las convulsiones, el tétano y la rabia<sup>97</sup>. Existen receptores cannabinoides, los cuales son los que interactúan con los cannabinoides, existen receptores adjuntos a proteína G (receptor cannabinoide 1 CB<sub>1</sub> y receptor cannabinoide 2 CB<sub>2</sub>), receptores nucleares y canales iónicos controlados por ligandos<sup>98,99</sup> estos comprenden todo el sistema endocannabinoide endógeno<sup>100</sup>.

Nagina Mangal et. al<sup>101</sup> realizaron una revisión narrativa en la cual describen que los cannabinoides sintéticos, endógenos y de origen vegetal presentan propiedades positivas contra los efectos adversos de los medicamentos antineoplásicos (contra el cáncer), también han demostrado que disminuyen la carga tumoral. Estos efectos son alcanzados dependiendo del tipo de cáncer, la dosis del compuesto y qué receptor/ligando se activaron<sup>101</sup>.

Estudios<sup>102,103</sup> in vitro para comprobar la potencia de los fitocannabinoides puros y en extractos demostraron que el CBD puro es el compuesto individual más potente en comparación con el THC en el tratamiento contra el cáncer de pulmón<sup>102</sup>.

Hay que resaltar que la gran mayoría de los estudios realizados in vitro se han ejecutado sobre células tumorales del sistema nervioso y en líneas celulares de cáncer de mama<sup>103</sup>. Se ha reportado en algunos casos la erradicación completa de las células tumorales con CBD<sup>104</sup>, así como con THC<sup>105</sup>.

En el 2021 Vinit Raj et. al<sup>106</sup> ejecutaron un estudio el cual tuvo como objetivo evaluar las potencias antivirales de los cannabinoides CBD y  $\Delta^9$ -THC contra el SARS-CoV-2, este estudio lo realizaron in silico e in vitro, con base en este estudio se concluyó que estos compuestos son moléculas de gran potencia contra el virus SARS-CoV-2, además no solo bloquean el proceso de traducción viral al inhibir el SARS-CoV-2 Mpro, sino que también tienen disminuyen los efectos proinflamatorios en las células pulmonares al actuar como agonista del receptor CB-2, finalmente este estudio demuestra que el CBD y el  $\Delta^9$ -THC se pueden usar solos o en combinación con otros fármacos para los pacientes con COVID-19<sup>106</sup>.

En una encuesta realizada a 339 pacientes checos con Parkinson, el 25 % de los pacientes afirmaron haber consumido cannabis regularmente como terapia añadida<sup>107</sup>. De los 85 pacientes, 39 de ellos expresaron que sentían una mejoría general en los síntomas, 26 informaron una mejora en la bradicinesia (lentitud en los movimientos), 32 pacientes expresaron una disminución en la rigidez muscular y 12 pacientes informaron que la mejora de la bradicinesia fue gracias a la levodopa, solo 4 pacientes manifestaron que sus síntomas empeoraron desde que iniciaron con el consumo de cannabis.

AW Zuardi et. al<sup>108</sup> realizaron un estudio piloto en el cual administraron CBD a 6 pacientes con psicosis asociada al Parkinson, las dosis administradas iniciaron con 150 mg la primera semana y 400 mg la cuarta y última semana<sup>108</sup>. Los síntomas psicóticos evaluados por BPRS (escala breve de calificación psiquiátrica) redujeron significativamente con el CBD y además no se observó ningún efecto adverso.

Actuales terapias en uso para el glaucoma proporcionan un efecto de neuroprotección para las células ganglionares de la retina (RGC), estudio<sup>109</sup> demuestra que el cannabinoide tiene propiedades neuroprotectoras y también actúa como mediador en la protección efectiva de las RGC, este estudio demuestra el potencial del CBN como importante agente farmacéutico para pacientes con glaucoma<sup>109</sup>.

**Tabla 6.** Cannabinoides y sus usos.

CANNABINOIDE	USO	REFERENCIA
CBD y $\Delta^9$ -THC	COVID-19	106
	Antiinflamatorio	110
CBD	Cáncer pulmonar	102,103
	Previene el vómito, reduce la ansiedad. analgésico, relajante muscular.	111,112
	Parkinson	108,113
CBN	Glaucoma	109
CBD, $\Delta^9$ -THC y CBN	Convulsiones	114

#### 4 Conclusiones

Los estudios cubiertos en esta revisión sistemática demuestran que, de las metodologías de extracción utilizadas para obtener extractos de cannabis, la cual cumple más pautas de la química verde es la metodología de extracción con dióxido de carbono supercrítico porque esta no genera residuos peligrosos, no utiliza solventes tóxicos y además se recicla adecuadamente el CO<sub>2</sub> y también se logra un rendimiento óptimo.

En esta revisión también se mostró que las plantas de *Cannabis sativa* hembras son las máximas productoras de cannabinoides, además se evidencia que la polinización de esta disminuye considerablemente la producción de cannabinoides.

De las metodologías de análisis cubiertas en esta revisión sistemática se concluye que la metodología más idónea para el análisis de cannabinoides es la de HPLC-MS, ya que la metodología GC-MS se limita al análisis de cannabinoides en sus formas neutras, esto debido a las altas temperaturas en el proceso que transforman los ácidos cannabinoides en sus formas neutras, cabe resaltar que la técnica de análisis que más cumple con las pautas de química verde es la espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR), ya que no genera residuos ni utiliza solventes y la muestra tiene muy poco pretratamiento (molienda y secado).

De acuerdo a los cannabinoides estudiados, se concluye que es posible evaluar la calidad de las inflorescencias de cannabis midiendo las concentraciones de CBN, puesto que este es una impureza generada a partir del THC.

#### 5 Bibliografía

- (1) Freiria, M. Inside the Marijuana. The Chemistry of Cannabis. **2016**, 42–46.
- (2) Montserrat-De La Paz, S.; Marín-Aguilar, F.; García-Giménez, M. D.; Fernández-Arche, M. A. Hemp (Cannabis Sativa L.) Seed Oil: Analytical and Phytochemical Characterization

- of the Unsaponifiable Fraction. *J Agric Food Chem* **2014**, *62* (5), 1105–1110. <https://doi.org/10.1021/jf404278q>.
- (3) Mandrioli, M.; Tura, M.; Scotti, S.; Toschi, T. G. Method in Cannabis Sativa L. **2019**, 1–12.
  - (4) López, G. E. Á.; Brindis, F.; Niizawa, S. C.; Martínez, R. V. Cannabis Sativa L., Una Planta Singular. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas* **2014**, *45* (4).
  - (5) Karğılı, U.; Aytaç, E. Supercritical Fluid Extraction of Cannabinoids (THC and CBD) from Four Different Strains of Cannabis Grown in Different Regions. *Journal of Supercritical Fluids* **2021**, *179* (April). <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105410>.
  - (6) Gaoni, Y.; Mechoulam, R. Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *J Am Chem Soc* **1964**, *86* (8), 1646–1647. <https://doi.org/10.1021/ja01062a046>.
  - (7) Protti, M.; Brighenti, V.; Battaglia, M. R.; Anceschi, L.; Pellati, F.; Mercolini, L. Cannabinoids from Cannabis Sativa L.: A New Tool Based on HPLC-DAD-MS/MS for a Rational Use in Medicinal Chemistry. *ACS Med Chem Lett* **2019**, *10* (4), 539–544. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.8b00571>.
  - (8) Brighenti, V.; Marchetti, L.; Anceschi, L.; Protti, M.; Verri, P.; Pollastro, F.; Mercolini, L.; Bertelli, D.; Zanardi, C.; Pellati, F. Separation and Non-Separation Methods for the Analysis of Cannabinoids in Cannabis Sativa L. *J Pharm Biomed Anal* **2021**, *206*, 114346. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114346>.
  - (9) Appendino, G.; Chianese, G.; Tagliatalata-Scafati, O. Cannabinoids: Occurrence and Medicinal Chemistry. *Curr Med Chem* **2011**, *18* (7), 1085–1099. <https://doi.org/10.2174/092986711794940888>.
  - (10) Alves, P.; Amaral, C.; Teixeira, N.; Correia-da-Silva, G. Cannabis Sativa: Much More beyond  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol. *Pharmacol Res* **2020**, *157* (April), 104822. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104822>.
  - (11) van Breemen, R. B.; Muchiri, R. N.; Bates, T. A.; Weinstein, J. B.; Leier, H. C.; Farley, S.; Tafesse, F. G. Cannabinoids Block Cellular Entry of SARS-CoV-2 and the Emerging Variants. *J Nat Prod* **2022**, *85* (1), 176–184. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.1c00946>.
  - (12) Marzorati, S.; Friscione, D.; Picchi, E.; Verotta, L. Cannabidiol from Inflorescences of Cannabis Sativa L.: Green Extraction and Purification Processes. *Ind Crops Prod* **2020**, *155* (April), 112816. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112816>.
  - (13) Yepes-Nuñez, J. J.; Urrútia, G.; Romero-García, M.; Alonso-Fernández, S. Declaración PRISMA 2020: Una Guía Actualizada Para La Publicación de Revisiones Sistemáticas. *Revista Española de Cardiología (English Edition)* **2021**, *74* (9), 790–799. <https://doi.org/10.1016/j.rec.2021.07.010>.
  - (14) Liu, Y.; Liu, H. Y.; Li, S. H.; Ma, W.; Wu, D. T.; Li, H. bin; Xiao, A. P.; Liu, L. L.; Zhu, F.; Gan, R. Y. Cannabis Sativa Bioactive Compounds and Their Extraction, Separation, Purification, and Identification Technologies: An Updated Review. *TrAC - Trends in*

- Analytical Chemistry*. Elsevier B.V. April 1, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116554>.
- (15) Thomas, B. F.; ElSohly, M. A. The Botany of Cannabis Sativa L. In *The Analytical Chemistry of Cannabis*; Elsevier, 2016; pp 1–26. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804646-3.00001-1>.
  - (16) Russo, E. B.; Marcu, J. Cannabis Pharmacology: The Usual Suspects and a Few Promising Leads; 2017; pp 67–134. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.03.004>.
  - (17) Ueda, N.; Tsuboi, K.; Uyama, T. Metabolic Enzymes for Endocannabinoids and Endocannabinoid-Like Mediators. In *The Endocannabinoidome*; Elsevier, 2015; pp 111–135. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420126-2.00008-0>.
  - (18) Wang, M.; Wang, Y. H.; Avula, B.; Radwan, M. M.; Wanas, A. S.; van Antwerp, J.; Parcher, J. F.; Elsohly, M. A.; Khan, I. A. Decarboxylation Study of Acidic Cannabinoids: A Novel Approach Using Ultra-High-Performance Supercritical Fluid Chromatography/Photodiode Array-Mass Spectrometry. *Cannabis Cannabinoid Res* **2016**, *1* (1), 262–271. <https://doi.org/10.1089/can.2016.0020>.
  - (19) Happyana, N.; Agnolet, S.; Muntendam, R.; van Dam, A.; Schneider, B.; Kayser, O. Analysis of Cannabinoids in Laser-Microdissected Trichomes of Medicinal Cannabis Sativa Using LCMS and Cryogenic NMR. *Phytochemistry* **2013**, *87*, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.11.001>.
  - (20) Arévalo Martín, Angel.; Sociedad Española de Investigación en Cannabinoides (SEIC). *Guía Básica Sobre Los Cannabinoides*; Sociedad Española de Investigación en Cannabinoides, 2002.
  - (21) Pourseyed Lazarjani, M.; Torres, S.; Hooker, T.; Fowlie, C.; Young, O.; Seyfoddin, A. Methods for Quantification of Cannabinoids: A Narrative Review. *J Cannabis Res* **2020**, *2* (1). <https://doi.org/10.1186/s42238-020-00040-2>.
  - (22) Maccarrone, M. Phytocannabinoids and Endocannabinoids: Different in Nature. *Rendiconti Lincei* **2020**, *31* (4), 931–938. <https://doi.org/10.1007/s12210-020-00957-z>.
  - (23) Glivar, T.; Eržen, J.; Kreft, S.; Zagožen, M.; Čerenak, A.; Čeh, B.; Tavčar Benković, E. Cannabinoid Content in Industrial Hemp (*Cannabis Sativa* L.) Varieties Grown in Slovenia. *Ind Crops Prod* **2020**, *145*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112082>.
  - (24) Jayadevappa, R.; Chhatre, S.; Johnson, J. C.; Malkowicz, S. B. Variation in Quality of Care among Older Men with Localized Prostate Cancer. *Cancer* **2011**, *117* (11), 2520–2529. <https://doi.org/10.1002/cncr.25812>.
  - (25) Kostanda, E.; Khatib, S. Biotic Stress Caused by Tetranychus Urticae Mites Elevates the Quantity of Secondary Metabolites, Cannabinoids and Terpenes, in Cannabis Sativa L. *Ind Crops Prod* **2022**, *176*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114331>.
  - (26) Andre, C. M.; Hausman, J. F.; Guerriero, G. Cannabis Sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Front Plant Sci* **2016**, *7* (FEB2016). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00019>.

- (27) Small, E. Evolution and Classification of Cannabis Sativa (Marijuana, Hemp) in Relation to Human Utilization. *The Botanical Review* **2015**, *81* (3), 189–294. <https://doi.org/10.1007/s12229-015-9157-3>.
- (28) Fishedick, J. T.; Hazekamp, A.; Erkelens, T.; Choi, Y. H.; Verpoorte, R. Metabolic Fingerprinting of Cannabis Sativa L., Cannabinoids and Terpenoids for Chemotaxonomic and Drug Standardization Purposes. *Phytochemistry* **2010**, *71* (17–18), 2058–2073. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.10.001>.
- (29) Fishedick J, E. S. Cannabinoids and Terpenes as Chemotaxonomic Markers in Cannabis. *Nat Prod Chem Res* **2015**, *03* (04). <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000181>.
- (30) Andre, C.; Larondelle, Y.; Evers, D. Dietary Antioxidants and Oxidative Stress from a Human and Plant Perspective: A Review. *Curr Nutr Food Sci* **2010**, *6* (1), 2–12. <https://doi.org/10.2174/157340110790909563>.
- (31) Flores-Sanchez, I. J.; Peč, J.; Fei, J.; Choi, Y. H.; Dušek, J.; Verpoorte, R. Elicitation Studies in Cell Suspension Cultures of Cannabis Sativa L. *J Biotechnol* **2009**, *143* (2), 157–168. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.05.006>.
- (32) Ross, S. A.; ElSohly, M. A.; Sultana, G. N. N.; Mehmedic, Z.; Hossain, C. F.; Chandra, S. Flavonoid Glycosides and Cannabinoids from the Pollen Of Cannabis Sativa L. *Phytochemical Analysis* **2005**, *16* (1), 45–48. <https://doi.org/10.1002/pca.809>.
- (33) Lesma, G.; Consonni, R.; Gambaro, V.; Remuzzi, C.; Roda, G.; Silvani, A.; Vece, V.; Visconti, G. L. Cannabinoid-Free Cannabis Sativa l. Grown in the Po Valley: Evaluation of Fatty Acid Profile, Antioxidant Capacity and Metabolic Content. *Nat Prod Res* **2014**, *28* (21), 1801–1807. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.926354>.
- (34) Fernández, S.; Carreras, T.; Castro, R.; Perelmutter, K.; Giorgi, V.; Vila, A.; Rosales, A.; Pazos, M.; Moyna, G.; Carrera, I.; Bollati-Fogolín, M.; García-Carnelli, C.; Carrera, I.; Vieitez, I. A Comparative Study of Supercritical Fluid and Ethanol Extracts of Cannabis Inflorescences: Chemical Profile and Biological Activity. *Journal of Supercritical Fluids* **2021**, *179*. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105385>.
- (35) Fiorito, S.; Epifano, F.; Palumbo, L.; Colavecchio, C.; Genovese, S. A Subcritical Butane-Based Extraction of Non-Psychoactive Cannabinoids from Hemp Inflorescences. *Ind Crops Prod* **2022**, *183*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114955>.
- (36) Drinić, Z.; Vladic, J.; Koren, A.; Zeremski, T.; Stojanov, N.; Tomić, M.; Vidović, S. Application of Conventional and High-Pressure Extraction Techniques for the Isolation of Bioactive Compounds from the Aerial Part of Hemp (Cannabis Sativa L.) Assortment Helena. *Ind Crops Prod* **2021**, *171*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113908>.
- (37) Moreno, T.; Montanes, F.; Tallon, S. J.; Fenton, T.; King, J. W. Extraction of Cannabinoids from Hemp (Cannabis Sativa L.) Using High Pressure Solvents: An Overview of Different Processing Options. *Journal of Supercritical Fluids* **2020**, *161*. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104850>.
- (38) Brighenti, V.; Pellati, F.; Steinbach, M.; Maran, D.; Benvenuti, S. Development of a New Extraction Technique and HPLC Method for the Analysis of Non-Psychoactive

- Cannabinoids in Fibre-Type Cannabis Sativa L. (Hemp). *J Pharm Biomed Anal* **2017**, *143*, 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.049>.
- (39) Karğılı, U.; Aytaç, E. Supercritical Fluid Extraction of Cannabinoids (THC and CBD) from Four Different Strains of Cannabis Grown in Different Regions. *Journal of Supercritical Fluids* **2021**, *179*. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105410>.
- (40) Grijó, D. R.; Vieitez Osorio, I. A.; Cardozo-Filho, L. Supercritical Extraction Strategies Using CO<sub>2</sub> and Ethanol to Obtain Cannabinoid Compounds from Cannabis Hybrid Flowers. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization* **2018**, *28*, 174–180. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2018.09.022>.
- (41) Gallo-Molina, A. C.; Castro-Vargas, H. I.; Garzón-Méndez, W. F.; Martínez Ramírez, J. A.; Rivera Monroy, Z. J.; King, J. W.; Parada-Alfonso, F. Extraction, Isolation and Purification of Tetrahydrocannabinol from the Cannabis Sativa L. Plant Using Supercritical Fluid Extraction and Solid Phase Extraction. *Journal of Supercritical Fluids* **2019**, *146*, 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.01.020>.
- (42) Pattnaik, F.; Nanda, S.; Mohanty, S.; Dalai, A. K.; Kumar, V.; Ponnusamy, S. K.; Naik, S. Cannabis: Chemistry, Extraction and Therapeutic Applications. *Chemosphere* **2022**, *289*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133012>.
- (43) Grijó, D. R.; Vieitez Osorio, I. A.; Cardozo-Filho, L. Supercritical Extraction Strategies Using CO<sub>2</sub> and Ethanol to Obtain Cannabinoid Compounds from Cannabis Hybrid Flowers. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization* **2018**, *28*, 174–180. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2018.09.022>.
- (44) Ribeiro Grijó, D.; Vieitez Osorio, I. A.; Cardozo-Filho, L. Supercritical Extraction Strategies Using CO<sub>2</sub> and Ethanol to Obtain Cannabinoid Compounds from Cannabis Hybrid Flowers. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization* **2019**, *30*, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2018.12.014>.
- (45) Rovetto, L. J.; Aieta, N. v. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Cannabinoids from Cannabis Sativa L. *Journal of Supercritical Fluids* **2017**, *129*, 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.03.014>.
- (46) Lazarjani, M. P.; Young, O.; Kebede, L.; Seyfoddin, A. Processing and Extraction Methods of Medicinal Cannabis: A Narrative Review. *J Cannabis Res* **2021**, *3* (1). <https://doi.org/10.1186/s42238-021-00087-9>.
- (47) Madaka, F.; Chankana, N.; Khamthong, N.; Maha, A.; Songsak, T. *EXTRACTION AND ISOLATION OF HIGH QUANTITIES OF CANNABIDIOL, CANNABINOL, AND DELTA-9-TETRAHYDROCANNABINOL FROM Cannabis Sativa L*; 2021; Vol. 25.
- (48) de A. Leite, J.; de Oliveira, M. V. L.; Conti, R.; de S. Borges, W.; Rosa, T. R.; Filgueiras, P. R.; Lacerda, V.; Romão, W.; Neto, Á. C. Extraction and Isolation of Cannabinoids from Marijuana Seizures and Characterization by 1H NMR Allied to Chemometric Tools. *Science and Justice* **2018**, *58* (5), 355–365. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2018.06.005>.
- (49) Chang, C. W.; Yen, C. C.; Wu, M. T.; Hsu, M. C.; Wu, T. Y. Microwave-Assisted Extraction of Cannabinoids in Hemp Nut Using Response Surface Methodology: Optimization and Comparative Study. *Molecules* **2017**, *22* (11). <https://doi.org/10.3390/molecules22111894>.

- (50) Ahmed, A. Q.; Noshad, D.; Li, P. C. H. Quantification of Cannabinoids in Cultivars of Cannabis Sp. by Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Chromatographia* **2021**, *84* (8), 711–717. <https://doi.org/10.1007/s10337-021-04060-9>.
- (51) Leiman, K.; Colomo, L.; Armenta, S.; de la Guardia, M.; Esteve-Turrillas, F. A. Fast Extraction of Cannabinoids in Marijuana Samples by Using Hard-Cap Espresso Machines. *Talanta* **2018**, *190*, 321–326. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.08.009>.
- (52) Namdar, D.; Mazuz, M.; Ion, A.; Koltai, H. Variation in the Compositions of Cannabinoid and Terpenoids in Cannabis Sativa Derived from Inflorescence Position along the Stem and Extraction Methods. *Ind Crops Prod* **2018**, *113*, 376–382. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.060>.
- (53) Baldino, L.; Scognamiglio, M.; Reverchon, E. Supercritical Fluid Technologies Applied to the Extraction of Compounds of Industrial Interest from Cannabis Sativa L. and to Their Pharmaceutical Formulations: A Review. *Journal of Supercritical Fluids*. Elsevier B.V. November 1, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104960>.
- (54) Kneisel, S.; Auwärter, V. Analysis of 30 Synthetic Cannabinoids in Serum by Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry after Liquid-Liquid Extraction. *Journal of Mass Spectrometry* **2012**, *47* (7), 825–835. <https://doi.org/10.1002/jms.3020>.
- (55) Capuzzo, A.; Maffei, M. E.; Occhipinti, A. Supercritical Fluid Extraction of Plant Flavors and Fragrances. *Molecules*. June 2013, pp 7194–7238. <https://doi.org/10.3390/molecules18067194>.
- (56) Qamar, S.; Torres, Y. J. M.; Parekh, H. S.; Robert Falconer, J. Extraction of Medicinal Cannabinoids through Supercritical Carbon Dioxide Technologies: A Review. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. Elsevier B.V. March 15, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122581>.
- (57) Omar, J.; Olivares, M.; Alzaga, M.; Etxebarria, N. Optimisation and Characterisation of Marijuana Extracts Obtained by Supercritical Fluid Extraction and Focused Ultrasound Extraction and Retention Time Locking GC-MS. *J Sep Sci* **2013**, *36* (8), 1397–1404. <https://doi.org/10.1002/jssc.201201103>.
- (58) Ribeiro Grijó, D.; Vieitez Osorio, I. A.; Cardozo-Filho, L. Supercritical Extraction Strategies Using CO<sub>2</sub> and Ethanol to Obtain Cannabinoid Compounds from Cannabis Hybrid Flowers. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization* **2019**, *30*, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2018.12.014>.
- (59) Rovetto, L. J.; Aieta, N. v. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Cannabinoids from Cannabis Sativa L. *J Supercrit Fluids* **2017**, *129*, 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.03.014>.
- (60) Meehan-Atrash, J.; Strongin, R. M. Pine Rosin Identified as a Toxic Cannabis Extract Adulterant. *Forensic Sci Int* **2020**, *312*, 110301. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110301>.

- (61) Moreno, T.; Montanes, F.; Tallon, S. J.; Fenton, T.; King, J. W. Extraction of Cannabinoids from Hemp (*Cannabis Sativa* L.) Using High Pressure Solvents: An Overview of Different Processing Options. *J Supercrit Fluids* **2020**, *161*, 104850. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104850>.
- (62) Al-Zouabi, I.; Stogner, J. M.; Miller, B. L.; Lane, E. S. Butane Hash Oil and Dabbing: Insights into Use, Amateur Production Techniques, and Potential Harm Mitigation. *Subst Abuse Rehabil* **2018**, *Volume 9*, 91–101. <https://doi.org/10.2147/sar.s135252>.
- (63) Routray, W.; Orsat, V. Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review. *Food Bioproc Tech* **2012**, *5* (2), 409–424. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0573-z>.
- (64) Addo, P. W.; Desaulniers Brousseau, V.; Morello, V.; MacPherson, S.; Paris, M.; Lefsrud, M. Cannabis Chemistry, Post-Harvest Processing Methods and Secondary Metabolite Profiling: A Review. *Industrial Crops and Products*. Elsevier B.V. October 15, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113743>.
- (65) Hazekamp, A.; Peltenburg, A.; Verpoorte, R.; Giroud, C. Chromatographic and Spectroscopic Data of Cannabinoids from *Cannabis Sativa* L. *J Liq Chromatogr Relat Technol* **2005**, *28* (15), 2361–2382. <https://doi.org/10.1080/10826070500187558>.
- (66) Cardenia, V.; Gallina Toschi, T.; Scappini, S.; Rubino, R. C.; Rodriguez-Estrada, M. T. Development and Validation of a Fast Gas Chromatography/Mass Spectrometry Method for the Determination of Cannabinoids in *Cannabis Sativa* L. *J Food Drug Anal* **2018**, *26* (4), 1283–1292. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.06.001>.
- (67) Nie, B.; Henion, J.; Ryona, I. The Role of Mass Spectrometry in the Cannabis Industry. *J Am Soc Mass Spectrom* **2019**, *30* (5), 719–730. <https://doi.org/10.1007/s13361-019-02164-z>.
- (68) United Nations Office on Drugs and Crime. *Métodos Recomendados Para La Identificación y El Análisis Del Cannabis y Los Productos Del Cannabis : Manual Para Uso de Los Laboratorios Nacionales de Estupefacientes*.
- (69) Leghissa, A.; Hildenbrand, Z. L.; Schug, K. A. A Review of Methods for the Chemical Characterization of Cannabis Natural Products. *J Sep Sci* **2018**, *41* (1), 398–415. <https://doi.org/10.1002/jssc.201701003>.
- (70) Križman, M. A Simplified Approach for Isocratic HPLC Analysis of Cannabinoids by Fine Tuning Chromatographic Selectivity. *European Food Research and Technology* **2020**, *246* (2), 315–322. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03344-7>.
- (71) Namdar, D.; Mazuz, M.; Ion, A.; Koltai, H. Variation in the Compositions of Cannabinoid and Terpenoids in *Cannabis Sativa* Derived from Inflorescence Position along the Stem and Extraction Methods. *Ind Crops Prod* **2018**, *113*, 376–382. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.060>.
- (72) Casiraghi, A.; Roda, G.; Casagni, E.; Cristina, C.; Musazzi, U.; Franzè, S.; Rocco, P.; Giuliani, C.; Fico, G.; Minghetti, P.; Gambaro, V. Extraction Method and Analysis of Cannabinoids in Cannabis Olive Oil Preparations. *Planta Med* **2018**, *84* (04), 242–249. <https://doi.org/10.1055/s-0043-123074>.

- (73) Pellati, F.; Brighenti, V.; Sperlea, J.; Marchetti, L.; Bertelli, D.; Benvenuti, S. New Methods for the Comprehensive Analysis of Bioactive Compounds in Cannabis Sativa L. (Hemp). *Molecules* **2018**, *23* (10), 2639. <https://doi.org/10.3390/molecules23102639>.
- (74) Namdar, D.; Charuvi, D.; Ajjampura, V.; Mazuz, M.; Ion, A.; Kamara, I.; Koltai, H. LED Lighting Affects the Composition and Biological Activity of Cannabis Sativa Secondary Metabolites. *Ind Crops Prod* **2019**, *132*, 177–185. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.016>.
- (75) Pellegrini, M.; Marchei, E.; Pacifici, R.; Pichini, S. A Rapid and Simple Procedure for the Determination of Cannabinoids in Hemp Food Products by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* **2005**, *36* (5), 939–946. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2004.07.035>.
- (76) Leghissa, A.; Smuts, J.; Qiu, C.; Hildenbrand, Z. L.; Schug, K. A. Detection of Cannabinoids and Cannabinoid Metabolites Using Gas Chromatography with Vacuum Ultraviolet Spectroscopy. *Sep Sci Plus* **2018**, *1* (1), 37–42. <https://doi.org/10.1002/sscp.201700005>.
- (77) Ciolino, L. A.; Ranieri, T. L.; Taylor, A. M. Commercial Cannabis Consumer Products Part 1: GC–MS Qualitative Analysis of Cannabis Cannabinoids. *Forensic Sci Int* **2018**, *289*, 429–437. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.05.032>.
- (78) Romano, L. L.; Hazekamp, A. *Cannabis Oil: Chemical Evaluation of an Upcoming Cannabis-Based Medicine*; 2013; Vol. 1.
- (79) Brighenti, V.; Pellati, F.; Steinbach, M.; Maran, D.; Benvenuti, S. Development of a New Extraction Technique and HPLC Method for the Analysis of Non-Psychoactive Cannabinoids in Fibre-Type Cannabis Sativa L. (Hemp). *J Pharm Biomed Anal* **2017**, *143*, 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.049>.
- (80) Zivovinic, S.; Alder, R.; Allenspach, M. D.; Steuer, C. Determination of Cannabinoids in Cannabis Sativa L. Samples for Recreational, Medical, and Forensic Purposes by Reversed-Phase Liquid Chromatography-Ultraviolet Detection. *J Anal Sci Technol* **2018**, *9* (1). <https://doi.org/10.1186/s40543-018-0159-8>.
- (81) Aizpurua-Olaizola, O.; Omar, J.; Navarro, P.; Olivares, M.; Etxebarria, N.; Usobiaga, A. Identification and Quantification of Cannabinoids in Cannabis Sativa L. Plants by High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **2014**, *406* (29), 7549–7560. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8177-x>.
- (82) Mudge, E. M.; Murch, S. J.; Brown, P. N. Leaner and Greener Analysis of Cannabinoids. *Anal Bioanal Chem* **2017**, *409* (12), 3153–3163. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0256-3>.
- (83) König, S.; Aebi, B.; Lanz, S.; Gasser, M.; Weinmann, W. On-Line SPE LC-MS/MS for the Quantification of  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol (THC) and Its Two Major Metabolites in Human Peripheral Blood by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **2011**, *400* (1), 9–16. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-4708-x>.

- (84) Piani, B.; Ferfuaia, C.; Bortolomeazzi, R.; Verardo, G.; Baldini, M. Development and Optimization of an HPLC-PDA Method for the Determination of Major Cannabinoids in Hemp (*Cannabis Sativa* L.) Essential Oil Obtained by Hydrodistillation. *Food Anal Methods* **2022**, *15* (6), 1677–1686. <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02229-y>.
- (85) Citti, C.; Pacchetti, B.; Vandelli, M. A.; Forni, F.; Cannazza, G. Analysis of Cannabinoids in Commercial Hemp Seed Oil and Decarboxylation Kinetics Studies of Cannabidiolic Acid (CBDA). *J Pharm Biomed Anal* **2018**, *149*, 532–540. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.044>.
- (86) Nemeškalová, A.; Hájková, K.; Mikulů, L.; Sýkora, D.; Kuchař, M. Combination of UV and MS/MS Detection for the LC Analysis of Cannabidiol-Rich Products. *Talanta* **2020**, *219*. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121250>.
- (87) Coogan, T. A. Analysis of the Cannabinoid Content of Strains Available in the New Jersey Medicinal Marijuana Program. *J Cannabis Res* **2019**, *1* (1). <https://doi.org/10.1186/s42238-019-0011-z>.
- (88) Citti, C.; Linciano, P.; Forni, F.; Vandelli, M. A.; Gigli, G.; Laganà, A.; Cannazza, G. Analysis of Impurities of Cannabidiol from Hemp. Isolation, Characterization and Synthesis of Cannabidibutol, the Novel Cannabidiol Butyl Analog. *J Pharm Biomed Anal* **2019**, *175*. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.06.049>.
- (89) Deidda, R.; Avohou, H. T.; Baronti, R.; Davolio, P. L.; Pasquini, B.; del Bubba, M.; Hubert, C.; Hubert, P.; Orlandini, S.; Furlanetto, S. Analytical Quality by Design: Development and Control Strategy for a LC Method to Evaluate the Cannabinoids Content in Cannabis Olive Oil Extracts. *J Pharm Biomed Anal* **2019**, *166*, 326–335. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.01.032>.
- (90) de Luca, C.; Buratti, A.; Krauke, Y.; Stephan, S.; Monks, K.; Brighenti, V.; Pellati, F.; Cavazzini, A.; Catani, M.; Felletti, S. Investigating the Effect of Polarity of Stationary and Mobile Phases on Retention of Cannabinoids in Normal Phase Liquid Chromatography. *Anal Bioanal Chem* **2022**, *414* (18), 5385–5395. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03862-y>.
- (91) Berthold, E. C.; Yang, R.; Sharma, A.; Kamble, S. H.; Kanumuri, S. R.; King, T. I.; Popa, R.; Freeman, J. H.; Brym, Z. T.; Avery, B. A.; McCurdy, C. R. Regulatory Sampling of Industrial Hemp Plant Samples (*Cannabis Sativa* L.) Using UPLC-MS/MS Method for Detection and Quantification of Twelve Cannabinoids. *J Cannabis Res* **2020**, *2* (1). <https://doi.org/10.1186/s42238-020-00050-0>.
- (92) Peschel, W.; Politi, M. <sup>1</sup>H NMR and HPLC/DAD for Cannabis Sativa L. Chemotype Distinction, Extract Profiling and Specification. *Talanta* **2015**, *140*, 150–165. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.02.040>.
- (93) Nicolaou, A. G.; Christodoulou, M. C.; Stavrou, I. J.; Kapnissi-Christodoulou, C. P. Analysis of Cannabinoids in Conventional and Alternative Biological Matrices by Liquid Chromatography: Applications and Challenges. *J Chromatogr A* **2021**, *1651*. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462277>.

- (94) Nicolaou, A. G.; Stavrou, I. J.; Louppis, A. P.; Constantinou, M. S.; Kapnissi-Christodoulou, C. Application of an Ultra-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometric Method for the Detection and Quantification of Cannabis in Cerumen Samples. *J Chromatogr A* **2021**, *1642*. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462035>.
- (95) Sánchez-Carnerero Callado, C.; Núñez-Sánchez, N.; Casano, S.; Ferreiro-Vera, C. The Potential of near Infrared Spectroscopy to Estimate the Content of Cannabinoids in Cannabis Sativa L.: A Comparative Study. *Talanta* **2018**, *190*, 147–157. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.07.085>.
- (96) Gonçalves, E. C. D.; Baldasso, G. M.; Bicca, M. A.; Paes, R. S.; Capasso, R.; Dutra, R. C. Terpenoids, Cannabimimetic Ligands, beyond the Cannabis Plant. *Molecules* **2020**, *25* (7), 1567. <https://doi.org/10.3390/molecules25071567>.
- (97) Marshall, C. R.; Wigner, J. H. REPORT ON THE STANDARDIZATION OF PREPARATIONS OF INDIAN HEMP: Part I.--THE VALUE OF THE "IODINE NUMBER." *BMJ* **1911**, *1* (2629), 1171–1171. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.2629.1171>.
- (98) Moreno, E.; Cavic, M.; Krivokuca, A.; Casadó, V.; Canela, E. The Endocannabinoid System as a Target in Cancer Diseases: Are We There Yet? *Front Pharmacol* **2019**, *10*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00339>.
- (99) Śledziński, P.; Zeyland, J.; Słomski, R.; Nowak, A. The Current State and Future Perspectives of Cannabinoids in Cancer Biology. *Cancer Med* **2018**, *7* (3), 765–775. <https://doi.org/10.1002/cam4.1312>.
- (100) Zou, S.; Kumar, U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. *Int J Mol Sci* **2018**, *19* (3), 833. <https://doi.org/10.3390/ijms19030833>.
- (101) Mangal, N.; Erridge, S.; Habib, N.; Sadanandam, A.; Reebye, V.; Sodergren, M. H. Cannabinoids in the Landscape of Cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH September 1, 2021, pp 2507–2534. <https://doi.org/10.1007/s00432-021-03710-7>.
- (102) Milian, L.; Mata, M.; Alcacer, J.; Oliver, M.; Sancho-Tello, M.; Martín de Llano, J. J.; Camps, C.; Galbis, J.; Carretero, J.; Carda, C. Cannabinoid Receptor Expression in Non-Small Cell Lung Cancer. Effectiveness of Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol Inhibiting Cell Proliferation and Epithelial-Mesenchymal Transition in Vitro. *PLoS One* **2020**, *15* (2), e0228909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228909>.
- (103) Nahler, G. Cannabidiol and Other Phytocannabinoids as Cancer Therapeutics. *Pharmaceutical Medicine*. Adis April 1, 2022, pp 99–129. <https://doi.org/10.1007/s40290-022-00420-4>.
- (104) Soroceanu, L.; Murase, R.; Limbad, C.; Singer, E.; Allison, J.; Adrados, I.; Kawamura, R.; Pakdel, A.; Fukuyo, Y.; Nguyen, D.; Khan, S.; Arauz, R.; Yount, G. L.; Moore, D. H.; Desprez, P.-Y.; McAllister, S. D. Id-1 Is a Key Transcriptional Regulator of Glioblastoma Aggressiveness and a Novel Therapeutic Target. *Cancer Res* **2013**, *73* (5), 1559–1569. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-1943>.

- (105) Galve-Roperh, I.; Sánchez, C.; Cortés, M. L.; del Pulgar, T. G.; Izquierdo, M.; Guzmán, M. Anti-Tumoral Action of Cannabinoids: Involvement of Sustained Ceramide Accumulation and Extracellular Signal-Regulated Kinase Activation. *Nat Med* **2000**, *6* (3), 313–319. <https://doi.org/10.1038/73171>.
- (106) Raj, V.; Park, J. G.; Cho, K. H.; Choi, P.; Kim, T.; Ham, J.; Lee, J. Assessment of Antiviral Potencies of Cannabinoids against SARS-CoV-2 Using Computational and in Vitro Approaches. *Int J Biol Macromol* **2021**, *168*, 474–485. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.020>.
- (107) Venderová, K.; Růžička, E.; Voříšek, V.; Višňovský, P. Survey on Cannabis Use in Parkinson's Disease: Subjective Improvement of Motor Symptoms. *Movement Disorders* **2004**, *19* (9), 1102–1106. <https://doi.org/10.1002/mds.20111>.
- (108) Zuardi, A.; Crippa, J.; Hallak, J.; Pinto, J.; Chagas, M.; Rodrigues, G.; Dursun, S.; Tumas, V. Cannabidiol for the Treatment of Psychosis in Parkinson's Disease. *Journal of Psychopharmacology* **2009**, *23* (8), 979–983. <https://doi.org/10.1177/0269881108096519>.
- (109) Somvanshi, R. K.; Zou, S.; Kadhim, S.; Padania, S.; Hsu, E.; Kumar, U. Cannabinol Modulates Neuroprotection and Intraocular Pressure: A Potential Multi-Target Therapeutic Intervention for Glaucoma. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* **2022**, *1868* (3). <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2021.166325>.
- (110) Shebaby, W.; Saliba, J.; Faour, W. H.; Ismail, J.; el Hage, M.; Daher, C. F.; Taleb, R. I.; Nehmeh, B.; Dagher, C.; Chrabieh, E.; Mroueh, M. In Vivo and in Vitro Anti-Inflammatory Activity Evaluation of Lebanese Cannabis Sativa L. Ssp. Indica (Lam.). *J Ethnopharmacol* **2021**, *270*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113743>.
- (111) Boyaji, S.; Merkow, J.; Elman, R. N. M.; Kaye, A. D.; Yong, R. J.; Urman, R. D. The Role of Cannabidiol (CBD) in Chronic Pain Management: An Assessment of Current Evidence. *Curr Pain Headache Rep* **2020**, *24* (2), 4. <https://doi.org/10.1007/s11916-020-0835-4>.
- (112) Škopek, M.; Heidler, J.; Hnizdil, J.; Šulc, J. The Effect of Cannabidiol (Cbd) on Simple and Complex Reaction Times. *Trends Sport Sci* **2021**, *28* (2), 147–151. <https://doi.org/10.23829/TSS.2021.28.2-8>.
- (113) Bougea, A.; Koros, C.; Simitsi, A. M.; Chrysovisitanou, C.; Leonardos, A.; Stefanis, L. Medical Cannabis as an Alternative Therapeutics for Parkinsons' Disease: Systematic Review. *Complementary Therapies in Clinical Practice*. Churchill Livingstone May 1, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2020.101154>.
- (114) Thornton, C.; Dickson, K. E.; Carty, D. R.; Ashpole, N. M.; Willett, K. L. Cannabis Constituents Reduce Seizure Behavior in Chemically-Induced and Scn1a-Mutant Zebrafish. *Epilepsy and Behavior* **2020**, *110*. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107152>.