

RESOLUCIÓN CPyGE ATLÁNTICA N° 005/2020

Viedma, 10 de septiembre de 2020.

VISTO: el PROYECTO INTEGRAL DE CANNABIS MEDICINAL presentado por la Secretaría de Investigación de la Sede Atlántica de la Universidad Nacional de Río Negro, Disposición ATL N° 2620/19 y la Resolución CICADyTT N° 002/20; y,

CONSIDERANDO:

Que el Estatuto Universitario en su artículo 32° inc. v) que faculta al CPyGE a *"Aprobar los requerimientos de infraestructura y equipamiento para el desarrollo de las actividades de docencia, investigación y extensión universitaria"*.

Que el objetivo del mismo es generar nuevos conocimientos desde un abordaje interdisciplinario e integral del cannabis medicinal para establecer políticas públicas, marco jurídico e información para la producción y uso farmacológico seguro y eficaz del cannabis.

Que es sumamente necesario relevar los principales escenarios normativos a nivel internacional, contrastar legislación nacional e internacional sobre el uso medicinal de cannabis.

Que los planteos sobre la necesidad de regulación del mercado de cannabis se vienen produciendo desde hace años. El crecimiento del movimiento de usuarios y cultivadores ha logrado instalar el tema a nivel social, político y mediático, y en algunos casos han producido reformas. Así ocurrió en Uruguay, donde se decidió regular el mercado de cannabis con cualquier finalidad. Sin embargo, en varios de los países las reformas se han limitado a regular sistemas de acceso al cannabis con fines medicinales o terapéuticos.

Que en el año 2017 se sancionó la Ley 27.350 que establece un marco



regulatorio para la investigación médica y científica del uso medicinal de la planta de cannabis y sus derivados.

Que la regulación de cannabis medicinal en Argentina se presenta en un escenario normativo complejo. En principio, solo se permite el ingreso del aceite de cannabis a través de la Ley 27.350 y disposición de Anmat 10874-E/2017, bajo importación de Uso Compasivo. Con autorización de Anmat junto a prescripción médica. (Especialidad medicinal / Sustancia controlada).

Que la Ley 27.350 crea el Programa Nacional para el Estudio y la Investigación del Uso Medicinal de la Planta de Cannabis, sus derivados y tratamientos no convencionales, en la órbita del Ministerio de Salud e invita a las provincias a adherir a la ley.

Que la misma se encuentra Reglamentada Decreto (PEN) 738/2017 (21/09/17).

Que en el ámbito de la provincia de Río Negro la Ley N° 5.309 sancionada el 22 de agosto de 2018 adhiere a la Ley Nacional N° 27.350

Que diferentes municipios rionegrinos han dictando legislación que tiende a dar un marco legal al cultivo del cannabis para uso medicinal a través de, la creación de registros, etc, tal es el caso de los Municipios de San Antonio Oeste y Viedma, entre otros.

Que la Corte Suprema, máximo órgano jurisdiccional en nuestro país, ha declarado la inconstitucionalidad de la penalización de la tenencia para consumo personal en su renombrado fallo "Arriola" de 2009, el cual reitera otro antecedente de mediados de la década del 80'. Pero el fallo no modifica la norma legislativa.



Que en la Provincia de Río Negro, a través de una presentación en la Justicia Federal se ha dado curso a la solicitud de una familia de la localidad de San Antonio Oeste para el auto cultivo de cannabis para uso medicinal.

Que en una de las presentaciones judiciales, se acompañó un un acuerdo con la UNRN, para poder desarrollar un protocolo de elaboración y el análisis de los componentes de activos del aceite de cannabis generado por la familia.

Que en este sentido es necesario producir quimiotipos de *Cannabis sativa* y *C. indica* utilizando cultivos *in vitro* y bajo cubierta con diferentes proporciones de THC / CBD y evaluar diferentes condiciones de cultivo.

Que corresponde elaborar protocolos estandarizados de cultivo para cannabis medicinal, para obtener extractos de Cannabis para el desarrollo de diferentes formas farmacéuticas (sólidas, semisólidas y líquidas) y evaluar su estabilidad.

Que se debe Establecer un protocolo para elaboración y el control de calidad los productos desarrollados.

Que en una primera etapa se debe determinar los efectos farmacológicos y posibles mecanismos de acción del Cannabis en modelos animales.

Que el Cannabis es un género perteneciente a la familia Cannabaceae con tres especies, diferenciadas sobre la base de análisis genético-taxonómicos. Se propone que habría una separación geográfica que existió entre *C. sativa* ("europeo"), *C. indica* ("sur-asiático-africano") y *C. ruderalis* ("centroasiático"). La planta de cannabis se utilizó por miles de años en diferentes culturas alrededor del mundo para distintos fines, entre ellos, la medicina. Las plantas de *C. sativa* y *C. indica* poseen distintos principios activos (cannabinoides, terpenos y polifenoles, entre los más importantes). Los cannabinoides o fitocannabinoides presentan diferentes propiedades medicinales y esto permite que algunas dolencias y

patologías puedan ser tratadas con cannabis, tales como epilepsia, síndrome de Tourette, glaucoma, esclerosis múltiple, fibromialgia, espasticidad, dolor crónico, trastornos del sueño y apetito, entre otros. Las diferentes quimiotipos (así se denominan por expresar diferentes proporciones de cannabinoides) son el producto de cruzamientos entre sativa e indica. Por lo que se obtienen extractos que presentan diferentes proporciones de TCH, CBD y CBN (cannabinodes más representativos y con efectos comprobados). Las diferentes patologías requieren de distintas proporciones de cannabinoides por lo que es necesario utilizar el fitopreparado más adecuado para cada una.

Que el proyecto abordará diferentes aspectos relacionados con lo legal, políticas públicas, cultivo, producción de fitopreparados, control de calidad y estudios en animales.

Que se trata de un proyecto interdisciplinario y se propende a la participación de todos los interesados de la Universidad Nacional de Río Negro y a la comunidad en aportar al mismo.

Que en la sesión realizada el día 10 de septiembre de 2020, por el Consejo de Programación y Gestión Estratégica de la Sede Atlántica se ha tratado el tema en el punto 8 del Orden del Día, habiéndose aprobado por unanimidad de las/os consejera/os presentes.

Que la presente se dicta en uso de las atribuciones conferidas por el Artículo 29° y 32° inc. v) del Estatuto de la UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO NEGRO;

Por ello,

**EL CONSEJO DE PROGRAMACIÓN Y GESTIÓN ESTRATÉGICA
DE LA SEDE ATLÁNTICA
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO NEGRO**



RESUELVE:

ARTÍCULO 1°.- Aprobar el PROYECTO DE CANNABIS MEDICINAL, presentado por la Secretaría de Investigación de la Sede Atlántica, que como Anexo I forma parte de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Aprobar la composición del equipo interdisciplinario que desarrollara el PROYECTO DE CANNABIS MEDICINAL que compone el Anexo II de esta norma.

ARTÍCULO 3°.- Registrar, comunicar y archivar.



Mgtr. ANSELMO TORRES
Vicarrector
SEDE ATLÁNTICA
Universidad Nacional de Río Negro

RESOLUCIÓN CPYGE ATLÁNTICA UNRN N° 005/2020

ANEXO I RESOLUCION CPYGE DE LA SEDE ATLÁNTICAN° 005/2020

PROYECTO INTEGRAL DE CANNABIS MEDICINAL

Objetivo general

Generar nuevos conocimientos desde un abordaje interdisciplinario e integral del cannabis medicinal para establecer políticas públicas, marco jurídico e información para la producción y uso farmacológico seguro y eficaz del cannabis.

Objetivos específicos

Relevar los principales escenarios normativos a nivel internacional, fundamentalmente en aquellos países más avanzados en la industria del cannabis medicinal.

Contrastar la legislación nacional e internacional sobre el uso medicinal del cannabis y generar propuestas/ejes superadores a la legislación actual.

Relevar los principales antecedentes jurisprudenciales respecto del uso de cannabis en el ámbito de la provincia de Río Negro y analizar las distintas estrategias jurídicas utilizadas en ellos.

Establecer lineamientos generales para políticas públicas en Cannabis medicinal

Producir quimiotipos de *Cannabis sativa* y *C. indica* utilizando cultivos *in vitro* y bajo cubierta con diferentes proporciones de THC y CBD y evaluar diferentes condiciones de cultivo.

Proponer protocolos estandarizados de cultivo para cannabis medicinal

Obtener extractos de Cannabis para el desarrollo de diferentes formas farmacéuticas (sólidas, semisólidas y líquidas) y evaluar su estabilidad

Establecer un protocolo para elaboración y el control de calidad los productos desarrollados

Determinar los efectos farmacológicos y posibles mecanismos de acción del Cannabis en modelos animales.



Cannabis es un género perteneciente a la familia Cannabaceae con tres especies, diferenciadas sobre la base de análisis genético-taxonómicos. Se propone que habría una separación geográfica que existió entre *C. sativa* ("europeo"), *C. indica* ("sur-asiático-africano") y *C. ruderalis* ("centroasiático") (Gilmore et al., 2003). La planta de cannabis se utilizó por miles de años en distintas culturas alrededor del mundo para distintos fines, entre ellos, la medicina. Las plantas de *C. sativa* y *C. indica* poseen distintos principios activos (cannabinoides, terpenos y polifenoles, entre los más importantes). Los cannabinoides o fitocannabinoides presentan diferentes propiedades medicinales y esto permite que algunas dolencias y patologías puedan ser tratadas con cannabis, tales como epilepsia, síndrome de Tourette, glaucoma, esclerosis múltiple, fibromialgia, espasticidad, dolor crónico, trastornos del sueño y apetito, entre otros.

Aspectos históricos, políticos y legales

Históricamente, Asia se propuso como la región original natural y la domesticación primaria de *C. sativa*, y se considera que desempeñó un papel importante en su evolución (Stevens et al., 2016; Jiang et al., 2006). Además, evidencias neolíticas encontradas en Taiwán sugieren que *C. sativa* se usó hace 12,000 años para varios propósitos diferentes (Li, 1974) y jugó un papel importante en los primeros cordajes y la fabricación de textiles. El uso médico de *C. sativa* registrado se remonta a unos 5000 años atrás, cuando se confeccionó la primer farmacopea china (Abel, 1980). Según este antiguo texto, *C. sativa* se prescribió para la fatiga, el reumatismo y la malaria (Abel, 1980).

El cannabis entro por primera vez en el sistema internacional de control de drogas en 1925 y termino incluido en las listas mas estrictas de la Convención Única de 1961, la Lista I y la IV. En la década de 1950, el organismo predecesor del Comité de Expertos adopto una postura firme en contra del cannabis, al sostener que el abuso de la cannabis puede constituir una etapa previa de la opiomania y que debía abolirse el empleo de la Cannabis para usos terapéuticos. En 2012 el Comité de Expertos del cannabis retomo las discusiones para que se incluyera el cannabis en la agenda de su proxima reunion. Mientras tanto, el panorama de las politicas en

materia de cannabis experimentaba cambios significativos a escala mundial. Se produjo una rápida expansión del mercado del cannabis medicinal en muchos países de Europa y América Latina (Argentina, Chile, Colombia, México, Perú y Uruguay). Además, en el continente americano, las reformas en las políticas de cannabis habían empezado a trascender los usos medicinales y a superar los límites del régimen de tratados de control de drogas de la ONU. Desde 2012, diez estados de los Estados Unidos y el Distrito de Columbia aprobaron iniciativas de voto o adoptado leyes para regular el uso adulto de cannabis; Uruguay (2013) y Canadá (2018) han establecido mercados regulados de cannabis a escala nacional.

Según el Informe Mundial sobre las Drogas de Naciones Unidas, 183 millones de personas utilizaron cannabis en 2014, lo que representa el 3,8% de la población mundial. Además, su cultivo fue comunicado por 129 países (Oficina de Naciones Unidas contra la Drogas y el Delito, 2016). Esta sustancia se encuentra sujeta al Sistema de Fiscalización Internacional de Estupefacientes y Psicotrópicos de Naciones Unidas; siendo dentro de ellas, la más consumida. Según dicho sistema de fiscalización, el cannabis es una de las sustancias que tiene el estatus jurídico más riguroso, al ser de las más prohibidas supuestamente por los daños que produce y su escasa utilidad médica (Corda y Fusero, 2016). En ese sentido, Argentina no es la excepción y presenta en un escenario normativo complejo, que en la actualidad se encuentra dentro del ámbito de la punición con una tendencia hacia su regulación.

Sin embargo, su uso medicinal, espiritual y social se registra en distintos lugares y tiempos de la humanidad sin graves consecuencias asociadas. Incluso su prohibición recién se empieza a desarrollar entrado el siglo XX (Bewley-Taylor et al., 2014) pese a que no existían -ni aún existen- registros de muertes por sobredosis de su consumo y los riesgos para la salud pública son relativamente bajos, incluso comparadas con otras sustancias psicoactivas con un tratamiento jurídico menos riguroso, como el alcohol y el tabaco.

Los planteos sobre la necesidad de regulación del mercado de cannabis se vienen produciendo desde hace años. El crecimiento del movimiento de usuarios y cultivadores ha logrado instalar el tema a nivel social, político y mediático, y en algunos casos han producido reformas. Así ocurrió en Uruguay, donde se decidió

regular el mercado de cannabis con cualquier finalidad. Sin embargo, en varios de los países las reformas se han limitado a regular sistemas de acceso al cannabis con fines medicinales o terapéuticos.

Cómo mencionamos la regulación de cannabis medicinal en Argentina se presenta en un escenario normativo complejo. En principio, solo se permite el ingreso del aceite de cannabis a través de la ley 27.350 y disposición de Anmat 10874-E/2017, bajo importación de Uso Compasivo. Con autorización de Anmat junto a prescripción médica. (Especialidad medicinal / Sustancia controlada).

Por otro lado, la posesión por fuera de dicha contemplación se encuentra tipificada por la ley penal Argentina aunque a nivel comparado se establecen umbrales por debajo de los cuales la posesión de cannabis no debería considerarse delito. Solamente en el caso de Uruguay la ley contempla una regulación de la cadena entera. Pese a que organizaciones cannábicas y sociales han logrado agendar el tema, en la mayoría de los países las reformas aún se encuentran pendientes o han resultado insuficientes. La inclusión de familiares de usuarios de cannabis con usos medicinales y terapéuticos ha contribuido a dar un empuje al movimiento y a sensibilizar tanto a los actores políticos como a la sociedad en su conjunto.

Entre los aspectos legislativos más relevantes podemos mencionar que, a nivel nacional, tenemos la Ley N° 23.737 ('89) que no penaliza el consumo de drogas sino a través conductas accesorias: el cultivo / tenencia. Establece así conductas típicas como el delito de tráfico de droga que tiene entre 4 a 15 años de prisión, la simple tenencia que va de 1 a 6 años de prisión, el consumo personal que va de 1 mes a 2 años de prisión, pudiéndose desviar el proceso hacia una medida de seguridad curativa o educativa según se trate de un dependiente o un experimentador. El cultivo para consumo personal tiene la misma pena que el anterior, pero depende la interpretación judicial puede considerarse como un delito de tráfico. En ese sentido, la ley no establece un régimen de cantidades umbrales por lo que la definición entre conductas relacionadas al tráfico y al consumo personal, queda a la discreción y arbitrariedad de los operadores judiciales.

En el año 2017 se sanciona la Ley 27.350 que establece un marco regulatorio para la investigación médica y científica del uso medicinal de la planta de cannabis y sus



derivados. Crea el Programa Nacional para el Estudio y la Investigación del Uso Medicinal de la Planta de Cannabis, sus derivados y tratamientos no convencionales, en la órbita del Ministerio de Salud. Por otro lado, invita a las provincias a adherir a la ley, a los efectos de incorporarse al programa, en el marco de los convenios que se celebren con la autoridad de aplicación. La misma se encuentra Reglamentada Decreto (PEN) 738/2017 (21/09/17) y normativa de la órbita ministerial, que se encuentra actualmente en proceso de modificación.

En el ámbito de la provincia de Río Negro encontramos la Ley N° 5.309 sancionada el 22 de agosto de 2018 mediante la cual se adhiere a la Ley Nacional Nro. 27.350 -Investigación Médica y Científica del Uso Medicinal de la Planta de Cannabis y sus derivados. Por otro lado, en las diferentes órbitas municipales rionegrinas se han ido dictando legislación que tiende a dar un marco legal al cultivo del cannabis para uso medicinal a través de, por ejemplo, la creación de registros, etc, tal es el caso del Municipio de San Antonio Oeste, Viedma, entre otros.

En lo que respecta a los antecedentes jurisprudenciales; los mismos han ido variando con la sanción de la ley N° 27.350. No obstante, la Corte Suprema, máximo órgano jurisdiccional en nuestro país, ha declarado la inconstitucionalidad de la penalización de la tenencia para consumo personal en su renombrado fallo "Arriola" de 2009, el cual reitera otro antecedente de mediados de la década del 80'. Pero el fallo no modifica la norma legislativa, cuyo texto aún se encuentra vigente como mencionamos anteriormente. Si bien el fallo produjo cambios en la actuación de los jueces, quienes han aplicado sucesivamente dicho antecedente tanto para declarar la inconstitucionalidad de la penalización de tenencia para consumo como para el autocultivo, ello no impactó de forma tan contundente sobre las prácticas policiales que se escudan en la plena vigencia de la ley.

Es menester destacar que, en el ámbito de la Provincia de Río Negro, a través de una presentación en la Justicia Federal se ha dado curso a la solicitud de una familia de la localidad de San Antonio Oeste para el auto cultivo de cannabis para uso medicinal. En una de las presentaciones judiciales, se acompañó un un acuerdo con la UNRN, para poder desarrollar un protocolo de elaboración y el análisis de los componentes de activos del aceite de cannabis generado por la familia.



En términos generales al día de hoy, encontramos que su regulación activa el poder punitivo del Estado y sólo tenemos un marco regulatorio para la investigación médica y científica del uso medicinal de la planta de cannabis y sus derivados. Más allá de los avances, se corren riesgos de seguir reproduciendo las mismas consecuencias actuales, perpetuando las afectaciones a la salud, la seguridad y la institucionalidad. Es necesario un cambio estructural en el abordaje de esta problemática compleja.

Las reformas “limitadas” que no reconocen la necesidad de regular otros usos del cannabis, como el los recreativos o culturales, corren en riesgo de seguir reproduciendo las mismas consecuencias actuales. En consecuencia, perduran las afectaciones a la salud, seguridad, institucionalidad y derechos humanos que la prohibición del cannabis y la ausencia de una regulación estatal, permiten e incentivan.

Legislación Comparada

En el ámbito regional Brasil está modificando la normativa e importa igual que Argentina bajo uso compasivo como especialidad medicinal. Presentaron un proyecto donde el cannabis medicinal se enmarque dentro de una normativa de “PRODUCTO FITOTERAPEUTICO”. Presentan dos opciones de comercialización y regulación: a) Aceites con alto contenido de CBD: Su provisión será a través de un médico por “Receta simple”. b) Los aceites con mayor contenido de 1% THC: Su provisión será a través de un medico por “Receta especializada” (recetas reguladas por la autoridad sanitaria). Las modalidades de obtención serán a través de aceites de cannabis importados como producto terminado y/o importación de materia prima para manufactura local. Para esta opción se importa el CBD puro en bulk bag. A diferencia de Argentina en Brasil la provisión de aceite de cannabis para uso medicinal está abierta a todas las patologías. Y el estado se hace cargo de costear el costo del producto. No está contemplada la regulación del autocultivo.

En EEUU varía su regulación según el estado, aunque poco a poco EEUU está federalizando su regulación. EEUU al igual que México, Brasil, Colombia y Uruguay están llevando el % THC permitido de menos de 0,3 % a menos de 1 %. Argentina



también se podría ajustar a menos 1 % de THC. Para productos con menos contenido de 1 % de THC para EEUU es un "SUPLEMENTO DIETARIO". Es de venta libre y no tiene regulación de la FDA. Algunas empresas de EEUU sostienen una estrategia de venta y de producción del aceite cannabis y subproductos de cannabis con alta concentración de CBD y bajo THC. Asimismo producen varios productos libres de THC. De esta forma consideran a los productos de puro CBD hacia un concepto de estilo de vida, ("Style Life") como lo llaman. Son productos para uso cotidiano con menor cantidad de miligramos de CBD que un aceite de cannabis para uso medicinal. Es el caso de los sprays, gomitas, bebidas, y otros alimentos con 100 % CBD. Si hay otra categoría de vaporizadores e inclusive aceites de cannabis con alto % de THC. Ejemplo para patologías de enfermedades oncológicas y dolor, para estos casos lleva una regulación de la FDA el cual se agrupan en la categoría de "Medical Cannabis". Sería como un medicamento de cannabis. No es un fármaco pero se debe presentar receta para adquirirlo. Se puede encontrar en los dispensarios. A nivel cultivo y consumo recreativo por ejemplo en California otorgan licencias libres para cáñamo. Y para marihuana solo permiten hasta (6) plantas en floración por persona. Asimismo se tienen que inscribir en un registro de cultivadores. Este caso de California es similar a la regulación de Uruguay.

En México el aceite de cannabis es un "Suplemento Dietario", específicamente es un aceite vegetal, por ende un alimento. No requiere regulación de la Cofepris y es de venta libre. Su uso está permitido para todas las patologías. Hoy México se encuentra en tratativas también en la modificación de la normativa vigente, en especial de la creación de una entidad de control exclusiva para el cannabis. Sería como un Instituto Nacional del Cannabis, el cual tendría competencia de control y regulación. Este órgano sería muy interesante replicar en Argentina tal vez a través de la Dirección Nacional del RECAN.

Podríamos continuar con un análisis de Inglaterra, Canada, Europa, Colombia.

En ese sentido, en Argentina sería clave que tenga una normativa y regulación para el cannabis medicinal y, la propuesta que se encuentra en agenda es que sea un: "PRODUCTO FITOTERAPEUTICO". No sería ni un fármaco, ni un suplemento

8x

dietario, ni un producto o remedio herbolario. De esta forma al ser un Producto Fitoterapeutico se pueden establecer propios estándares regulatorios. Se considera importante conformar un organismo de control específico para el Cannabis. Que no tenga competencia de Anmat, considerando que no sería un medicamento, sino con competencia de control y regulación. La importancia de la creación de un instituto, entidad o dirección nacional específica para el cannabis permitiría establecer del producto y/o del cultivo los siguientes estándares: Regulación., Control de calidad; Control de composición de la molécula (THC, CBD, CBN, Terpenos) para cada producto, Diversificación y clasificación de los productos., Trazabilidad, Precio, Logística, Licencias, autorizaciones y/o permisos.

Asimismo, esta normativa es importante que este acompañada de una posible resolución que permita a los pacientes el acceso gratuito al tratamiento. Es decir que las obras sociales puedan bajo seguimiento clínico y auditoria cubrir el costo del producto. Como así también se permita ampliar el uso del cannabis hacia otras patologías. Como conclusión y como complemento al diagnóstico y propuesta establecida es interesante pensar en la normativa que tiene prevista establecer Brasil para el cannabis como un Producto Fitoterapeutico. De México; tomar el modelo de creación de una Agencia o Instituto de Control y Regulación del Cannabis y de EEUU adaptar la idea de clasificar los productos con diversas concentraciones de CBD y THC. Tener en cuenta que el cáñamo posee menos del 0,3 % de THC por lo tal no se lo puedo considerar un estupefaciente o sustancia peligrosa. Sería importante solicitar a través del Ministerio de Agroindustria cartera a cargo del INASE (Instituto Nacional de Semillas), poder discriminar al cáñamo de la marihuana en la lista 1 y 4 de la ley de estupefacientes. Con una resolución se podría resolver. De esta forma el cáñamo se desprendería como sustancia peligrosa de las listas de la ley de estupefacientes considerando que no hace discriminación. Solo establece la lista CANNABIS SATIVA.

Cabe destacar que del cáñamo se pueden obtener los siguientes subproductos: a) De la flor se obtiene el CBD, THC, y terpenos para uso medicinal y cosmética. B) De la flor también se obtienen las semillas para consumo alimenticio. Las semillas no contienen THC ni CBD. Si contienen vitaminas y Omega. C) Tallos y hojas:

87

Materiales para la construcción: (Hemp creates) Ladrillos de cáñamo biodegradables y sustentables. Fibra de cáñamo para la industria textil. Energía, Plástico, Papel.

Aspectos químicos y farmacológicos

Se identificaron 538 compuestos naturales de *C. sativa* y más de 100 se identifican como fitocannabinoides (Hanus et al., 2016). Los fitocannabinoides están principalmente presentes en la resina secretada por los tricomas de plantas femeninas, mientras que las hojas masculinas de *C. sativa* tiene pocos tricomas glandulares que producen pequeñas cantidades. Los fitocannabinoides se clasifican como cannabinoides neutros (sin grupo carboxilo) y cannabinoides ácidos (con grupo carboxilo) (Hanus et al., 2016). En *C. sativa*, los cannabinoides son biosintetizados y acumulados como ácidos cannabinoides y posteriormente descarboxilado en sus formas neutras. En particular, alquilación de ácido olivaólico con geranil-pirofosfato por una preniltransferasa produce ácido cannabigerólico (CBGa). Por acción de enzimas el ácido CBGa se transforma en ácido cannabidiol (CBDa), ácido cannabicromene (CBCa) y Δ -9-tetrahidrocannabinol ácido (Δ 9-THCa) (Sirikantaramas y Taura, 2017). Entre los fitocannabinoides más prevalentes e importantes desde el punto de vista farmacológico son el Δ 9-THC, Δ 9-THCa, Δ 9-THCv, CBN, CBD, CBDa, CBDv, CBG, CBGa, CBC y CBCa.

Análisis de cannabinoides

Determinación de cannabinoides por HPLC-DAD

La determinación de cannabinoides se llevará a cabo utilizando un HPLC-DAD Thermo UltiMate 3.000. Los métodos a evaluar son los revisados por Citti y col (2018). Se realizará un ensayo de verificación de métodos validados de acuerdo a lo descrito en la Guía Eurolab España (2016).

Preparación de la muestra a partir de flores de cannabis

Extráiganse 500 mg de la flor de cannabis seca y homogénea con 5 ml de metanol: cloroformo (9:1 v/v) mediante el siguiente procedimiento: remuévase el material 10 segundos en vórtice, luego póngase 15 min en baño ultrasónico, después agítese de nuevo en vórtice durante 5, 10 y 15 minutos, y por último centrifúguese. Se extraerán



3 μ L del sobrenadante y se inyectarán en el equipo HPLC para la determinación de cannabinoides

Preparación de aceite y muestra para determinación de cannabinoides por HPLC.

Para preparar aceite de cannabis y las muestras para HPLC se seguirán las indicaciones reportadas por Romano y Hazekamp (2013) y Picifici y col (2017). Brevemente, 500 mg de flores de cannabis se colocaron en 5 ml de aceite de oliva y se calentarán en un baño de agua (98 °C) durante 120 min. Luego, las muestras de aceite serán llevadas a temperatura ambiente. El filtrado y extraído se realizará de la siguiente manera: 100 μ L de la muestra de aceite se colocará en un tubo de vidrio con 10 μ L de estándar interno (1 mg / mL) y 890 μ L de metanol: cloroformo (9: 1, v / v). Luego, el tubo se sonificará durante 15 min y se centrifugará a 3500 g durante 5 min. Una cantidad de 3 μ L del sobrenadante se inyectarán en el equipo HPLC para la determinación de cannabinoides.

Por otro lado, se realizarán extracciones de flores de cannabis con etanol y sonicado por 15 minutos de acuerdo a lo descrito por Giese y col (2015). El etanol se extraerá en rotavapor y la resina será solubilizada en el vehículo (aceite vegetal).

Condiciones de corrida del HPLC

Se evaluarán diferentes condiciones de corrida. Inicialmente se evaluarán diferentes métodos.

Método propuesto por Patel y colaboradores (2017).

Columna: Agilent Poroshell 120 SB-C18(3.0 \times 75 mm ID \times 2.7 μ m particle size) core shell technologybase column. Fase móvil: A: Solución de acetato de amonio 25 mM pH: 4,75 \pm 0,01 (ajustado con ácido acético) B: Metanol. En el programa de corrida se usan diferentes gradientes entre ambas. Gradiente: 0-8.25 min:68.0-85.0% Fase móvil B, 100% metanol, 8.2-9.0 min: 85.0-95.0% Fase móvil B, 9.0-10.0 min: 95.0-68.0% Fase móvil B. Flujo 0,70 mL/min. Temperatura de columna 30 °C. Volumen de inyección; 10 μ L.

Método propuesto por las Naciones Unidas (2010).



Tipo de columna: 250x4mm RP 8 (5 μm); columna previa 4x4mm RP-8 (5 μm).
Temperatura de la columna: 30°C. Fase móvil: Acetonitrilo: agua (8:2 v/v), isocrática,
tiempo de parada 8 min. Flujo: 1 ml/min. Detección: Matriz de fotodiodos (PDA), 220
nm y 240 nm. El volumen de inyección podrá variar entre 3 y 10 μL . El orden de
elución esperado: CBD, CBN, THC, THCA.

Método propuesto por De Backer y col (2009).

Brevemente, la fase móvil consistirá en una mezcla de metanol / agua que contiene
50 mM de formiato de amonio (ajustado a pH 5,19). El ajuste inicial será metanol al
68% (v / v), que se incrementará linealmente a metanol al 90,5% durante 25 min y
luego se incrementará al 95% en 1 min. Después de mantener esta condición
durante 3 min, la columna se llevará a la condición inicial en 1 min y se reequilibrará
en esta condición durante 6 min. El tiempo de ejecución total será de 36 min
aproximadamente. El caudal se fijará en 0,3 ml / min y un volumen de inyección de
30 μL . Todos los experimentos se llevaron a cabo a 30 °C.

Métodos recomendados por proveedores de las columnas

Columna: Ascentis Express C18 10 cm \times 2.1 mm, 2.0 μm particle size (50813-U).
Fase móvil: [A] 0.1% formic acid; [B] 0.1 % formic acid in acetonitrile. Flujo: 0.4
mL/min. Presión: 6300 psi. Temperatura de columna: 35 °C. Detector: UV 280 nm.
Volumen de inyección: 1 μL

Columna: Ascentis Express RP-Amide, 15 cm \times 4.6 mm I.D., 5 μm particles (50774-
U). Fase móvil: 5 mM ammonium acetate (pH 4.5 with acetic acid) in 20:80,
acetonitrile: wáter. Flujo: 1.0 mL/min. Presión de columna: 1450 psi (100 bar).
Temperatura de columna.: 35 °C. Detector: UV, 214 nm. Volumen de inyección: 5 μL .

Farmacología y Cannabinoides activos

Cannabidiol (CBD): el ácido cannabidiólico (CBDA) y el CBD son los
fitocannabinoides más abundantes en la especie de *Cannabis sativa* (Hanus et al.,
2016). A pesar de la similitud estructural entre CBD y Δ^9 -THC, CBD tiene un bajo
agonismo por receptores cannabinoides, se considera como un modulador alostérico



negativo de los receptores CB1 y CB2 (Pertwee, 2008; Casajuana Köguel et al., 2018). Los reportes sugieren que el CBD ejerce efectos farmacológicos a través de los receptores de adenosina, glicina, opioides, serotonina y acetilcolina entre los más importantes (Ibeas Bih et al., 2015). Además, el CBD muestra efectos anticonvulsivantes, antiespasmódicos, ansiolíticos, antieméticos, antiartrosicos y propiedades neuroprotectoras (Pertwee, 2008). Recientemente, se ha demostrado que el CBD es un agonista inverso para receptores huérfanos acoplados a proteínas G tales como GPR3, GPR6 y GPR12, que sugieren nuevos usos terapéuticos de CBD para el Alzheimer, Parkinson, cáncer e infertilidad (Laun et al., 2018)

Tetrahidrocannabinol: Trans- Δ -9-tetrahidrocannabinol (Δ 9-THC) es el compuesto de *C. sativa* con mayor actividad psicoactiva (Pertwee, 2008). Los principales precursores del Δ 9-THC no presentan actividad psicotrópica (ácidos Δ 9-THC A y B). La degradación de Δ 9-THC es mayormente oxidativa transformándose en CBN y otros componentes (Hanus et al., 2016; Andre et al., 2016). El Δ 9-THC es un agonista parcial en ambos receptores cannabinoides: CB1 (modulador de los efectos psicoactivos) y CB2 (modulador de los efectos inmunológicos y antiinflamatorios) (Pertwee, 2008). Los efectos psicoactivos del Δ 9-THC incluyen ansiedad, paranoia, alteraciones perceptivas y déficits cognitivos. Todos estos efectos mediados por CB1 son causados por la perturbación de neurotransmisión glutaminérgica (GABA) y liberación de dopamina (Pertwee, 2008). Además, también se ha observado una baja toxicidad aguda de Δ 9-THC en modelos murinos. Por último, después de la administración de Δ 9-THC, se ha informado hipolocomoción, hipotermia, catalepsia, analgesia y una mayor ingesta de alimentos (Pertwee, 2008).

Δ 9-tetrahidrocannabivarina (Δ 9-THCv): se considera un antagonista del receptor CB1 (Dennis et al., 2008) ya que a dosis bajas (<3 mg / kg) antagoniza los efectos Δ 9-THC al actuar sobre la ingesta de alimentos en ratones. Por el contrario, a dosis más altas (10 mg / kg) Δ 9-THCv muestra un perfil agonista (Pertwee, 2008). Además, Δ 9-THCv puede activar los receptores CB2 e inhibir la producción de óxido nítrico estimulada por LPS en los macrófagos (Bolognini et al., 2010; Romano et al., 2016)



Cannabinol (CBN): la concentración de CBN en los productos de *C. sativa* depende de la madurez de la flor y las condiciones de almacenamiento. El CBN es altamente estable frente a la degradación oxidativa. Es ligeramente psicoactivo que proviene de la degradación del THC y se le atribuyen efectos relajantes y se usa para el tratamiento de trastornos del sueño. Finalmente, se ha observado una baja afinidad de CBN por los receptores CB1 y CB2 (Hanus et al., 2016).

Cannabigerol (CBG): estos fitocannabinoides tienen una estructura química heterogénea y no producen acción psicoactiva mediado por el receptor CB1 (Izzo et al., 2009). Es un agonista del receptor adrenérgico α -2 capaz de inhibir la liberación de catecolaminas causando sedación, relajación muscular y analgesia efectos (Cascio et al., 2010).

Cannabicromeno (CBC): desde un punto de vista estructural, CBC es uno de los fitocannabinoides más estables; detectándose en muestras centenarias de *C. sativa* (Russo et al., 2008). Los compuestos de tipo CBC no muestran efectos psicoactivos mediados por CB1. En particular, CBC parece reducir niveles de óxido nítrico, IL-10 e interferón- γ en macrófagos peritoneales activado por LPS pudiendo tener un efecto curativo sobre la enfermedad inflamatoria intestinal (Romano et al., 2013).

Otros componentes activos presentes en los extractos de cannabis

Más de 200 terpenoides, responsables de la fragancia de *C. sativa*, se han identificado en la flor, las hojas de la planta y pueden representar el 10% del contenido de los tricomas (Booth et al., 2017). Limoneno, mirceno, y pineno son los más comunes y altamente volátiles. Los terpenoides son moléculas lipofílicas que interactúan con las membranas celulares de los animales a nivel central y periférico (Russo, 2011). El mirceno con otros fitocannabinoides contribuyen a los efectos sedativos y antiinflamatorios de *C. sativa*. Diferentes estudios sugieren que los terpenos contribuyen y modulan los efectos de los cannabinoides (Bonini et al., 2018).

Aspectos farmacológicos



La planta de Cannabis ha sido ampliamente utilizada durante muchos siglos como fuente de fibra, con fines medicinales, para ceremonias religiosas y como droga recreativa. Desde el descubrimiento del $\Delta 9$ -tetrahidrocannabinol (THC), se ha logrado un progreso significativo hacia la comprensión de la farmacología tanto del THC como de otros componentes del cannabis y de los usos potenciales de los fitocannabinoides como medicamentos. Actualmente, existe una amplia evidencia de que los efectos farmacológicos de los fitocannabinoides se deben a su capacidad de interactuar con los receptores de endocannabinoides y con otros sitios activos, incluidos los receptores no cannabinoides, y esto hace que la farmacología de los fitocannabinoides sea compleja y amplia.

Originalmente, debido a su naturaleza hidrofóbica, se sugirió que los efectos del THC se debían a una perturbación no específica de las membranas celulares, sin embargo luego del hallazgo de los receptores CB1 y CB2 se comprendió que el efecto era mediado por un sistema endógeno preexistente (Devane et al. 1988; Matsuda et al. 1990; Munro et al. 1993). Por lo que los efectos psicotrópicos del THC se deben principalmente a su capacidad para interactuar con los receptores CB1 ubicados en el cerebro (Howlett et al. 2002; Pertwee 1997, 2005). También hay evidencia de que los receptores CB1 también están presentes en órganos periféricos, tejidos y células como los testículos, el corazón, el tejido vascular y las células inmunes. Los receptores CB2, inicialmente encontrados en las células inmunes, también se han detectado en algunas neuronas del tronco encefálico. Es importante destacar que, aunque muchos de los efectos del THC son a causa de la activación de receptores de cannabinoides hay otros receptores con afinidad por estas moléculas. Estos incluyen los receptores TRPV1, PPAR y receptores activados por proteínas G como el GPR55 y receptores 5-HT1A (Cascio et al., 2017)

Los receptores CB1 y CB2 son receptores acoplados a proteínas $G_{i/o}$ que inhiben la adenilato ciclasa y activan las MAP quinasas (Howlett 2002, 2005). Los receptores cannabinoides CB1 también pueden mediar la inhibición de las corrientes de calcio de tipo N y P / Q, y activar las corrientes de potasio de tipo A. Estos receptores se encuentran principalmente en las terminales de las neuronas centrales y periféricas, donde median la inhibición de la liberación de varios neurotransmisores como la



acetilcolina, el ácido c-aminobutírico, la 5-hidroxitriptamina, el D-aspartato y la colecistoquinina (Howlett 2002; Pertwee y Ross 2002).

En humanos existe un tono subyacente de endocannabinoides (eCB) que refleja los niveles de Anandamida (AEA, N-araquidonoiletanolamina) y de 2-araquidonoilglicerol (2-AG), su producción, metabolismo, abundancia y estado del receptor (Russo, 2016). Bajo ciertas condiciones el tono de eCB se vuelve deficiente, produciendo síndromes fisiopatológicos. La deficiencia comparable en los niveles de eCB puede manifestarse de manera similar en ciertos trastornos que muestran características clínicas predecibles como secuelas de esta deficiencia. La deficiencia de eCB puede traducirse en migraña (niveles de AEA en el líquido cefalorraquídeo), fibromialgia (hipofunción central de eCB en la médula espinal) y síndrome del intestino irritable. Otras afecciones relacionadas con la deficiencia de eCB incluyen trastorno de estrés postraumático, enfermedad de Parkinson, diabetes, esclerosis múltiple y enfermedad de Huntington. Russo ha sugerido que eCB puede desempeñar un papel en las deficiencias de neurotransmisores, incluida la deficiencia de acetilcolina que se encuentra en la enfermedad de Alzheimer, y las deficiencias de serotonina y norepinefrina que se encuentran en la depresión (Russo, 2016).

En los últimos años se han sintetizado un gran número de nuevos compuestos que son capaces de activar el sistema cannabinoide endógeno, entre ellos: nabilona (análogo sintético del THC); dronabinol (preparación oral sintética a base de delta9-THC (Marinol®); ácido ajulémico (compuesto sintético derivado del metabolito 11-carboxi-THC); Nabiximols (combinación de THC y CBD (Sativex®)); Levonantradol (cannabinoide sintético análogo del dronabinol).

Marinol y Syndros (principio activo: dronabinol): cápsulas orales o solución oral 2,5 mg, 5 mg o 10 mg de dronabinol (THC sintético) disuelto en aceite de sésamo. El dronabinol está indicado para la anorexia asociada a la pérdida de peso en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y las náuseas y los vómitos asociados a la quimioterapia contra el cáncer, generalmente después del fracaso de los tratamientos previos.

Cesamet y Canemes (principio activo: nabilona): cápsulas orales que contienen un cannabinoide sintético similar al THC (Cápsulas de 1 mg de Nabilona). La indicación



principal son las náuseas y los vómitos asociados a la quimioterapia, habitualmente después del fracaso de los tratamientos previos (Abuhasira et al., 2018). Este producto está aprobado para su comercialización en Argentina.

Sativex (principio activo: Nabiximol): medicamento que contiene cantidades aproximadamente iguales de THC y CBD a partir de dos extractos de cannabis. Este producto está autorizado para el tratamiento de la espasticidad muscular secundaria a la esclerosis múltiple (Iversen, 2007; Russo y Guy, 2006). Spray oromucosal o sublingual de un extracto estandarizado de Cannabis. Cada pulverización libera una dosis fija de 2,7 mg de THC y 2,5 mg de CBD.

Epidiolex (principio activo: CBD): solución oral de CBD de origen vegetal indicada para el tratamiento de las crisis asociadas al síndrome de Lennox-Gastaut o al síndrome de Dravet en pacientes de 2 años o más.

En Argentina únicamente está autorizado el uso de Cannabis y sus derivados para el tratamiento de pacientes que padezcan epilepsia refractaria. Específicamente, está autorizada la importación del aceite de Cannabis y derivados para pacientes con esta patología, siendo condición necesaria que posean prescripción médica de aceite de Cannabis o sus derivados, debido a que en el país no se producen medicamentos a base de esta planta.

La epilepsia es una enfermedad crónica caracterizada por una hiperexcitabilidad neuronal que conduce al desarrollo de convulsiones recurrentes. Los fármacos antiepilépticos son fundamentales para el control sintomático de las crisis convulsivas. Sin embargo, un 30% de los pacientes con epilepsia son resistentes a los tratamientos anticonvulsivantes actuales y presentan cuadros graves con mal pronóstico; especialmente niños y jóvenes con epilepsias refractarias como los síndromes de Dravet y Lennox-Gastaut. Los cannabinoides exógenos se consideran una opción terapéutica en este tipo de pacientes, donde no se consigue un control adecuado de las crisis epilépticas con la farmacoterapia estándar y luego de la instauración de otras medidas, como la intervención quirúrgica, la neuroestimulación o la dieta cetogénica.



Resumen de diferentes trastornos y la utilización de fitocannabinoides (Bonnini et al., 2018).

Trastorno	Cannabinoide	Mecanismo de acción (Receptores)
Dolor	Δ^9 -THC, CBD	Periférico-CB1, CB2, TRPV1, GPR55 y PPARs
Esclerosis múltiple	Δ^9 -THC, CBD	CB1 y CB2
Anorexia	Δ^9 -THC, CBG	CB1 y CB2
Vómitos y náuseas	Δ^9 -THC	CB1 y CB2
Colitis	CBD, CBC, CBG, Δ^9 -THCA	CB2
Desórdenes del sueño	Δ^9 -THC, CBD	CB1 y CB2
Síndrome de Touret	Δ^9 -THC, CBD	CB1 y CB2
Anorexia	CBD	CB2
Epilepsia	Δ^9 -THC, CBD, Δ^9 -THCV?	CB1 y CB2
Esquizofrenia	CBD	CB2, Dopamina y Serotonina?
Alzheimer	Δ^9 -THC, CBD	CB1, CB2, GPR3, GPR6 y GPR12
Parkinson	Δ^9 -THC?, CBD, Δ^9 -THCV,	CB1 and CB2

Desarrollo de medicamentos a base de cannabis y ensayos asociados

Se desarrollarán diferentes formas farmacéuticas a base de cannabis. Entre otros se incluyen líquidos, sólidos y semisólidos. Las etapas del proceso incluyen los siguientes pasos.

Preformulación.

- Caracterización físico-química del principio activo.
- Métodos analíticos.
- Estudios de estabilidad y compatibilidad con excipientes.

Formulación.

- Creación del espacio-diseño.
- Selección de excipientes y definición de métodos tecnológicos.
- Estrategias de estabilización.
- Especificaciones del medicamento.

Cambio de escala.

- Elaboración de lotes piloto y para uso clínico.
- Estudios de cambio de escala.

Aspectos a tener en cuenta en el proyecto: Nombre del producto, forma farmacéutica, composición cuali y cuantitativa. Se analizará el fundamento del uso o de las indicaciones terapéuticas incluyendo posología basado en el uso tradicional y/o popular del producto y/o su comercialización prolongada y/o por referencias

JS

publicadas en literatura reconocida a nivel científico. También se realizarán los ensayos farmacológicos que avalen el uso propuesto, para lo que se llevaran a cabo alianzas con laboratorios medicinales. Métodos in vivo o modelos alternativos adecuados para demostrar la actividad terapéutica propuesta o información científica que lo demuestre.

El desarrollo del producto considerará la descripción del método de preparación y control de las materias primas. Para el caso de las drogas vegetales se debe presentar una monografía completa de la misma e información toxicológica que garantice la seguridad de su uso.

Sobre el producto terminado se realizarán controles de calidad y se especificarán los controles a realizar, técnicas de muestreo, ensayos farmacotécnicos con sus respectivas especificaciones. Los métodos de caracterización incluirán la valoración de los ingredientes activos con su límite de aceptabilidad, control higiénico y estabilidad.

Los estudios microbiológicos cumplirán con los requisitos para medicamentos fitoterápicos (forma farmacéutica sea de uso oral): Recuento de bacterias aeróbicas totales: No mayor de 10⁴ ufc/g. Recuento de *Enterobacteriaceae*: no mayor de 10² /g. Investigación de *Escherichia coli*: ausencia en 1 g. Investigación de *Salmonella* sp: ausencia en 1 g. Investigación de *Staphylococcus aureus*: ausencia en 1 g. Investigación de sulfito reductores: ausencia en 1 g. Recuento de hongos y levaduras: no mayor de 10² ufc/g. Determinación de aflatoxinas (deberá dar negativo).

Uso en animales

Existen numerosas publicaciones científicas sobre el sistema endocannabinoide (ECS) en diversas especies de animales de laboratorio. Estas publicaciones respaldan la seguridad y el potencial terapéutico, que en realidad podría traducirse a cualquier especie de vertebrado. El ECS se ha descrito en vertebrados, incluyendo peces cebra (Lam et al., 2006; Oltrabella et al., 2017) y perros (Salzet et al., 2000), entre otros. La dosis mínima letal de THC por vía oral para perros es más de 3 g / kg (Fitzgerald et al., 2013), mientras que la dosis letal media no se ha establecido



(Donaldson, 2019). La vida media de los CB es de 30 horas y la excreción es de 5 a 15 días (85% en heces y 15% en orina); La recuperación después de la ingestión es de 24 horas en la mayoría de los casos, pero puede ser de hasta 72 horas (Donaldson, 2019).

Los análisis filogenéticos han revelado que el sistema eCB está altamente conservado entre el pez cebra, una característica que no se encuentra en organismos comunes de invertebrados de alto rendimiento como *Saccharomyces cerevisiae*, *Drosophila melanogaster* o *Caenorhabditis elegans* (Klee et al., 2012; Mcpartland et al., 2007). Dado su sistema eCB altamente conservado y su conjunto único de características que pueden aprovecharse para aplicaciones de investigación, el pez cebra representa un modelo preclínico eficaz para estudiar la señalización CB in vivo. Sin embargo, establecer cuándo y dónde se expresan los genes eCB es esencial para permitir estudios posteriores de señalización de CB en cualquier momento del desarrollo de la vida del pez cebra.

Los protocolos de los ensayos en animales serán evaluados y deberán estar aprobados por el CICUAL de la UNRN. Se prevén realizar ensayos en perros (epilepsia y dolor) y pez cebra (estudios de toxicidad).

Aspectos agronómicos y de cultivo

Los niveles de fitocannabinoides de *C. sativa* están influenciados por condiciones ambientales extremas de humedad, temperatura, radiación, nutrientes del suelo y plagas (Russo, 2011). El estrés hídrico y el clima soleado generan cambios en los componentes activos. Además, la temperatura en asociación con la humedad ambiental tiene un rol determinante en el contenido de cannabinoides. La exposición de *C. sativa* a la radiación ultravioleta (UV-B 280–315 nm) produce significativamente mayores cantidades de Δ 9-THC (Pate, 1994).

Los nutrientes del suelo producen cambios en la producción de cannabinoides. En particular, hay una correlación negativa entre el contenido de K del suelo y la concentración de Δ 9-THC en *C. sativa*. Además, Mg y Fe son importantes para la producción de fitocannabinoides, porque pueden servir como cofactores para las reacciones enzimáticas (Pate, 1994). Finalmente, los terpenos y los

fitocannabinoides pueden bloquear otras fuentes de estrés como ataques de bacterias, hongos e insectos, o competencia con vegetación circundante. La hembra de *C. sativa* son conocidas por su calidad aromática y muchos de los terpenos producidos (pineno, limoneno, terpineol y borneol) son conocidos por presentar propiedades repelentes de insectos y puede ayudar a suprimir el crecimiento de la vegetación circundante (McPartland, 1997). En el mismo sentido la resina de los tricomas glandulares funciona como un sistema defensivo para atrapar insectos y posee propiedades antibióticas y antifúngicas (Appendino et al., 2008).

El progreso genético de cualquier programa de mejoramiento de cannabis está limitado debido a la dificultad de mantener genotipos en campo o invernadero con altos rendimientos en compuestos de interés farmacológico debido a que las plantas de cannabis son alógamas, hecho que dificulta la mantención de cultivares/clones a través de semilla. La producción de plantas a través de semillas hace que la productividad de las mismas sea variable (Meijer et al., 1992). Por esta razón la conservación de determinados cultivares/clones específicos permite la obtención de varios individuos con producción estable de los compuestos de interés. En este sentido, la biotecnología aporta herramientas para su logro a través de la micropropagación. Esta técnica es el conjunto de métodos utilizados para multiplicar las plantas asexualmente. La misma permite obtener plantas genéticamente idénticas (clones) de la planta madre. A partir de un fragmento de una planta (explanto) cultivado *in vitro* en una cámara de crecimiento en condiciones medioambientales controladas, se pueden obtener nuevas plantas, la cuales pueden trasladarse a un sustrato o volver a fragmentarse para producir nuevas plantas por esta vía.

La micropropagación *in vitro* podría revolucionar las técnicas tradicionales del cultivo de cannabis, ya que permite una producción masiva de plantas en forma rápida. Las plantas producidas *in vitro* se mantienen en un medio de cultivo nutritivo, bajo condiciones que les permiten ser almacenadas durante largos periodos de tiempo, de este modo, es posible mantener especies de interés con ciertas propiedades (contenido de fitocannabinoides y terpenos, entre otros) en espacios reducidos por el



tiempo que sea necesario. Por otra parte, esta técnica al realizarse en condiciones de asepsia asegura la obtención de plantas con excelentes condiciones sanitarias.

Existen diversos protocolos de regeneración de plantas de cannabis para diferentes genotipos, explantos y medios de cultivo (Lata et al., 2017). En este sentido este autor menciona la utilización de partes de semilla para la obtención de callos en suspensión (Itokawa et al., 1977) incluso a través de la utilización del medio de Gamborg's modificado (Veliky and Genest, 1972). Las hojas utilizadas como explantos para la obtención de células en suspensión en un medio B5 + 0.5 mg/l KIN + 1 mg/l 2,4 D (Braemer et al., 1985) o para la obtención de callos en un medio MS + 0.5 μ M NAA + 1.0 μ M de TDZ (Lata et al., 2010). Otros trabajos citados utilizan entrenudos y cotiledones para la obtención de callos en MS + 1 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA y MS + 2 mg/l TDZ + 0.5 mg/L IBA, respectivamente (Jiang et al., 2015; Movahedi et al., 2015). Otras investigación lograron obtener el desarrollo de tallos y raíces a partir de yemas laterales de la semilla, epicótilo y de cotiledones mediante la utilización de distintos medios (Bing et al., 2007; Movahedi et al., 2015; Chaohua et al., 2016). La organogénesis directa fue lograda a partir de segmentos nodales con yemas axilares en medios MS + 0.5 μ M TDZ y MS + 2 μ M m-topolin, respectivamente (Lata et al., 2009; Lata et al., 2016).

La propagación del cannabis se ha logrado por dos vías diferentes de organogénesis, es decir organogénesis directa e indirecta y el medio de cultivo más utilizado es el de Murashige y Skoog (MS) en combinación de auxinas y citoquininas como reguladores del crecimiento.

La diversidad de protocolos existentes brinda información suficiente para la selección adecuada del mismo en función del objetivo de estudio, en este sentido la reciente información publicada por Boonsongcheep y Pongkitwitoon (2020) aporta un resumen de técnicas y procedimientos actualizada.

Una vez obtenidas las plántulas por micropropagación se llevará a cabo la rusticación y cultivo de las mismas en sustratos orgánicos, artificiales o hidroponía.

El cannabis prefiere suelos ricos, ligeramente ácidos y de alta calidad que drenen bien. Se utiliza tierra con perlita para un mayor drenaje. Los sustratos orgánicos para macetas a menudo funcionan bien para cultivar cannabis cuando se mezclan

con perlita. Las plantas absorben los nutrientes del suelo, especialmente en la etapa de floración, por eso es importante proporcionar al sustrato la cantidad justa (no demasiada) del tipo correcto de fertilizante para maximizar su rendimiento y prevenir deficiencias de nutrientes. Actualmente existen diferentes combinaciones de fertilizantes en el mercado que funcionan muy bien para los diferentes estadios fenológicos de la planta.

La hidroponía se refiere a las plantas en crecimiento en sustratos sin suelo, incluidos los medios de cultivo como el coco, la arena, la grava, el agua pura o incluso el aire empañado. Al cultivar marihuana hidropónicamente, como cultivador depende de proporcionar todos los nutrientes que las plantas necesitan a lo largo de los diferentes estadios fenológicos. Esto se hace agregando nutrientes al suministro de agua. El beneficio de esto es que se puede proporcionar con precisión la cantidad correcta de los nutrientes adecuados que las plantas de cannabis necesitan, para maximizar sus rendimientos (aproximadamente 687 g por planta en base seca) (Knight et al., 2010).

Micropropagación

El progreso genético de cualquier programa de mejoramiento de cannabis está limitado debido a la dificultad de mantener genotipos en campo o invernadero con altos rendimientos en compuestos de interés farmacológico debido a que las plantas de cannabis son alógamas, hecho que dificulta la mantención de cultivares/clones a través de semilla. La producción de plantas a través de semillas hace que la productividad de las mismas sea variable (Meijer et al., 1992). Por esta razón la conservación de determinados cultivares/clones específicos permite la obtención de varios individuos con producción estable de los compuestos de interés. En este sentido, la biotecnología aporta herramientas para su logro por ejemplo, a través de la micropropagación.

La micropropagación es el conjunto de técnicas y métodos utilizados para multiplicar las plantas asexualmente. La misma permite obtener plantas genéticamente idénticas (clones) de la planta madre. A partir de un fragmento de una planta (explanto) cultivado in vitro en una cámara de crecimiento en condiciones

medioambientales controladas, se pueden obtener nuevas plantas, las cuales pueden trasladarse a un sustrato o pueden volver a fragmentarse para producir nuevas plantas por esta vía.

La micropropagación *in vitro* podría revolucionar las técnicas tradicionales del cultivo de cannabis, ya que permite una producción masiva de plantas en forma rápida. Las plantas producidas *in vitro* se mantienen en un medio de cultivo nutritivo, bajo condiciones que les permiten ser almacenadas durante largos periodos de tiempo, de este modo, es posible mantener especies de interés por ciertas cualidades/fitocannabinoides en espacios reducidos por el tiempo necesario. Por otra parte, esta técnica al realizarse en condiciones de asepsia asegura la obtención de plantas con excelentes condiciones sanitarias.

Existen diversos protocolos de regeneración de plantas de cannabis para diferentes genotipos, explantos y medios de cultivo tal como cita Lata et al., 2017. En este sentido este autor menciona la utilización de partes de semilla para la obtención de callos en suspensión (Itokawa et al., 1977) incluso a través de la utilización del medio de Gamborg's modificado (Veliky and Genest, 1972). Las hojas utilizadas como explantos para la obtención de células en suspensión en un medio B5 + 0.5 mg/l KIN + 1 mg/l 2,4 -D (Braemer et al., 1985) ó para la obtención de callos en un medio MS + 0.5 μ M NAA + 1.0 μ MTDZ (Lata et al., 2010). Otros trabajos citados utilizan entrenudos y cotiledones para la obtención de callos en MS + 1 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA y MS + 2 mg/l TDZ + 0.5 mg/l IBA respectivamente (Jiang et al., 2015; Movahedi et al., 2015). Otras investigaciones lograron obtener el desarrollo de tallos y raíces a partir de yemas laterales de la semilla, epicotilo y de cotiledones mediante la utilización de distintos medios (Bing et al., 2007; Movahedi et al., 2015; Chaohua et al., 2016). La organogénesis directa fue lograda a partir de segmentos nodales con yemas axilares en medios MS + 0.5 μ M TDZ y MS + 2 μ M m-topolin respectivamente (Lata et al., 2009 y Lata et al., 2016).

En líneas generales la propagación del cannabis se ha logrado por dos vías diferentes de organogénesis, es decir organogénesis directa e indirecta y el medio de cultivo más utilizado es el de Murashige y Skoog (MS) en combinación de auxinas y citoquininas como reguladores del crecimiento.



La diversidad de protocolos existentes brinda información suficiente para la selección de adecuada del mismo en función del objetivo de estudio, en este sentido la reciente información publicada por Boonsnongcheep & Pongkitwitoon (2020) aporta un resumen de técnicas y procedimientos actualizada

Cultivo en hidroponía

Para realizar un cultivo hidropónico de cannabis el primer paso es la elección del medio de cultivo, es decir, una sustancia que sostenga el esqueje que deseamos producir. Para ello se utilizan diferentes materiales inertes que permitirán que las raíces crezcan hacia abajo dentro del agua en busca de nutrientes así como un buen acceso aéreo de la parte superior. Cada medio tiene sus propias ventajas, y algunos funcionan mejor dependiendo del sistema productivo utilizado y de los materiales comercializables en el mercado. En nuestro caso se considera que el medio adecuado será la perlita, vidrio volcánico que se expande cuando se expone a altas temperaturas. Por otra parte, existen numerosos sistemas de producción hidropónica: flujo y reflujo, aeroponía, raíz flotante, goteo, mecha, técnica de película nutritiva (Beltrano y Gimenez 2015). Todo ellos tienen como punto en común que utilizan una solución acuosa enriquecida con nutrientes, pero varían en función de distintos factores como la exposición a/o la circulación del agua.

Para este proyecto se prevé implementar el sistema de flujo y reflujo (también conocido como inundación y drenaje) que consiste en hacer que el agua fluya y se drene. Se utilizan varios recipientes (macetas) suspendidos sobre una bandeja de cultivo con entrada y salida para el agua. Ambos canales están conectados a un depósito externo que contiene la solución nutritiva, una piedra de aire para airear el suministro de agua, y una bomba sumergida para empujar el agua en la bandeja de cultivo con un temporizador. De esta forma, las raíces no están continuamente sumergidas en agua, sino que se inundan periódicamente con agua fresca con oxígeno y enriquecida con nutrientes. Cuando termina el ciclo, el agua vuelve al depósito externo.

Antes de poner en funcionamiento el sistema será necesario la esterilización (alcohol y agua caliente) de todos los materiales para minimizar las posibilidades de



contaminación. Por otra parte, considerar que el recipiente que contenga la solución nutritiva deberá permanecer en condiciones de oscuridad para evitar que ocurra la degradación/precipitación de ciertos nutrientes fotosensibles.

Para preparar la solución nutritiva será necesario probar alguna de las soluciones disponibles para otros cultivos que se encuentren en el mercado, dado que, las soluciones específicas para cannabis no son producidas nacionalmente. Estos productos normalmente indican la frecuencia de recambio y el grado de dilución.

Lo esquejes deberán ser cortados adecuadamente y desinfectados previo a introducirlos dentro del sistema. Se recomienda la elección de una variedad pequeña y compacta por el rápido crecimiento observado en esta forma de cultivo. En este trabajo se planifica el enraizamiento previo de los esquejes en un aeroclonador. Una vez enraizados se colocaran en el sistema hidropónico y se monitorearan los siguientes parámetros: pH del medio, el cual deberá ser ligeramente ácido (6,2-6,4) para favorecer la disponibilidad de nutrientes y garantizar un buen entorno de cultivo. De ser necesario cambiar la solución semanalmente para mantener este parámetro en los valores adecuados. Durante la floración, se recomienda un pH de 6. La temperatura del medio deberá ser de 20°C (Huerdo, 2008).

Cultivo en sustrato

Para estos ensayos se consideran las dimensiones de recipiente adecuadas según el estadio fenológico del cultivo. El sustrato a utilizar deberá ser aireado para el correcto desarrollo de las raíces del cannabis. Para ello se utilizará un sustrato específico para este cultivo provisto de los nutrientes necesarios, o bien, un sustrato de uso común con agregado de perlita para favorecer la aireación del mismo. Se debe controlar que el pH del suelo se encuentre cercano a 6,7 (recomendado como óptimo) y evitar pH ácidos (Huerdo, 2008). Será importante monitorear la fertilización del cultivo adecuadamente según los requerimientos de la especie en las diferentes etapas de desarrollo.

El crecimiento de los esquejes (obtenidos a partir de cultivo in vitro) se colocaran en condiciones controladas (in door) de temperatura, luz y aireación. En el caso de partir de semillas, las mismas serán germinadas a 25°C (Cervantes, 2007) en un



sustrato bien aireado y con buena retención de humedad. Previo a la siembra las semillas serán colocadas un tiempo en agua para favorecer la imbibición de la misma, luego se colocaran en el sustrato elegido a una profundidad de siembra entre 5-10 mm. Los recipientes serán colocados en oscuridad para favorecer la germinación. Una vez emergidas las plántulas, cuando las mismas presenten un porte adecuado y un óptimo desarrollo radicular, serán transferidas a contenedores de mayor tamaño preparados como se indicó anteriormente.

Para el control de la luz se utilizarán lámparas de crecimiento-floración (que sirvan para ambas etapas del cultivo). Pueden utilizarse diferentes tipos de lámparas aunque las mejores producciones se logran con lámparas de sodio de 400 a 600 vatios por metro cuadrado. Es importante considerar una altura de las mismas de 30-40 cm por encima de las plantas en las primeras 3 semanas de crecimiento. Por otra parte estas lámparas generan una cantidad razonable de calor, que deberá ser monitoreada para mantener la temperatura óptima para el desarrollo del cultivo. El cannabis es una planta de "días cortos" que florece naturalmente a finales de verano (Clarke 1981), donde necesita noches ininterrumpidas y suficientemente largas para iniciar la floración. El fotoperiodo será regulado en 18 horas de luz y 6 de oscuridad al día. Para inducir la floración con un buen cogollado, el mismo será modificado a 12 hs de luz y 12 hs de oscuridad, según recomienda como óptimo Huergo (2008).

Para la aireación del recinto se prevé la utilización de un equipo de aire acondicionado, el mismo además de favorecer la circulación de aire y la reposición de dióxido de carbono permitirá para mantener una temperatura ambiente cercana a los valores óptimos (22-28 °C y durante la noche 18-22°C) para el desarrollo del cultivo. Si no es posible disponer de un equipo de aire acondicionado se utilizarán ventiladores. Es importante considerar un extractor de aire con filtro de carbono que favorecerá la eliminación del olor característico de las plantas de cannabis durante la floración (Cervantes, 2007).

Durante el desarrollo del cultivo y fundamentalmente en el estadio de floración es importante considerar una nutrición adecuada. Podrían utilizarse fertilizantes a base de nitrógeno, fósforo y potasio. Nitrógeno y potasio son los nutrientes más necesarios para el crecimiento mientras que una mezcla de fósforo y potasio son



más recomendadas durante la floración. Se planifica la utilización de fertilizantes específicos para cannabis o de lo contrario un manejo racional de la fertilización en función de los fertilizantes disponibles en el mercado.

Con respecto al riego, es esencial considerar las características del agua utilizada para tal fin. El volumen y frecuencia de riego deberá monitorearse cuidadosamente para cubrir los requerimientos de cada etapa de crecimiento. En el agua de riego se debe controlar concentraciones de CaCO_3 entre 30 mg / L y 100 mg / L, CE por debajo de 1,5 mS / cm, y dureza como iones Ca y Mg entre 100 mg / L y 150 mg / L (Swistock, 2016). American Herbal Pharmacopoeia recomienda que el pH en el agua de riego sea entre 6.5 - 7.2

En relación al método de cultivo se optará por darle a las plantas un tiempo de crecimiento adecuado para desarrollar ramas laterales. Para ello se realizara el corte del vástago principal en la parte superior de la planta (ápice), la planta dejara de crecer en altura y ocurrirá la promoción del desarrollo de las ramas laterales (pérdida de dominancia apical) la planta deja de crecer en altura, y pasa a concentrar todas sus energías en las ramas laterales. También se aconseja eliminar las ramas más bajas de la planta dado que estas reciben poca o nula luz, por lo que producirán cogollos pobres. Eliminándolas obtenemos una mejor circulación de aire bajo las plantas y toda la energía disponible será enviada a los cogollos más altos. La planta será de menor porte pero mucho más gruesa, con varios cogollos de tamaño medio y se reduce además la presencia de problemas sanitarios ocasionados por hongos. Lo adecuado es realizar esta poda una semana antes de la floración.

Con el comienzo de la floración se identificaran las plantas macho, las mismas deberán ser eliminadas para dejar a las plantas hembras con más espacio y recursos disponibles para su desarrollo.

Otra cuestión a tener en cuenta es la forma de las plantas, suele utilizarse una red sobre las plantas, lo que ayuda a darles una forma y adecuada distancia entre ramas, maximizando así la cantidad de luz que recibe cada rama (Huergo,2008).

Trascurrido el periodo de floración (entre 8-10 semanas según la variedad) se cortarán los cogollos maduros. Para determinar el momento óptimo de cosecha se optará por el examen visual. Según Jin et al., (2019), American Herbal



Pharmacopoeia sugiere cuatro evaluaciones físicas. La primera evaluación se basa en el porcentaje de estigmas envejecidos, que aparecen de color marrón. Se sugiere una cosecha del 75%. La segunda evaluación se basa en la firmeza de la inflorescencia: una resistencia relativamente firme cuando se presiona. La tercera evaluación se basa en el color de los tricomas glandulares. Cosecha debe ocurrir cuando hay un cambio de un claro a ámbar o un blanco turbio de las primeras cabezas de resina, lo que indica la degradación del THC a CBN. El último, el olor, que alcanzará un aroma picante específico de la cepa en la madurez. Estos métodos pueden ser combinados para determinar el momento óptimo de cosecha (Jim et al., 2019)

Una vez cosechados los cogollos se dispondrán para su correcto secado en oscuridad y ambiente fresco (15-18°C). La Oficina de Cannabis Medicinal del Gobierno neerlandés especifica que el contenido de agua del cannabis debe estar entre el 5% y el 10% para su envasado (Hazekamp et al., 2006). Si las plantas se cuelgan para que se sequen, los tiempos medios necesarios para alcanzar una humedad del 15% se consideran de 36, 18 y 11 horas a 30 ° C, 40 ° C y 50 ° C, respectivamente (Potter, 2009). El secado a una temperatura superior a 37 ° C durante 24 horas puede descarboxilar los ácidos cannabinoides (Turner and Mahlberg, 1984).

Bibliografía

- Abel, E.L., 1980. Marijuana: The First Twelve Thousand Years. Springer, US, New York.
- Abuhasira, R., Schleider, L. B.-L., Mechoulam, R. and Novack, V. (2018). Epidemiological characteristics, safety and efficacy of medical cannabis in the elderly. *European Journal of Internal Medicine* 49, pp. 44-50
- Appendino, G., Gibbons, S., Giana, A., Pagani, A., Grassi, G., Stavri, M., Smith, E., Rahman, M.M., 2008. Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa*: a structureactivity study. *J. Nat. Prod.* 71, 1427–1430
- Beltrano, J.; y Gimenez, D.O. 2015. Cultivo en hidroponía. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). ISBN: 978-950-34-1258-9.



- Bewley-Taylor, D.; Blickman T.; Jelsma, M. (2014). Auge y caída de la prohibición del cannabis. La historia del cannabis en el sistema de control de drogas de la ONU y opciones de reforma. Transnational Institute (TNI) - Global Drug Policy Observatory (GDPO), Amsterdam.
- Bing X, Ning L, Jinfeng T, Nan G (2007) Rapid tissue culture method of Cannabis sativa for industrial uses. CN 1887043 A 20070103 Patent pp 9
- Bing X, Ning L, Jinfeng T, Nan G (2007) Rapid tissue culture method of Cannabis sativa for industrial uses. CN 1887043 A 20070103 Patent pp 9
- Bolognini, D., Costa, B., Maione, S., Comelli, F., Marini, P., Di Marzo, V., Parolaro, D., Ross, R.A., Gauson, L.A., Cascio, M.G., Pertwee, R.G., 2010. The plant cannabinoid Delta9-tetrahydrocannabivarin can decrease signs of inflammation and inflammatory pain in mice. *Br. J. Pharmacol.* 160, 677–687
- Bonini SA, Premoli M, Tambaro S, Kumar A, Maccarinelli G, Memo M, Mastinu A., 2018. Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *Journal of Ethnopharmacology* 227, 300-315.
- Boonsongcheep, P., & Pongkitwitoon, B. 2020. Factors affecting micropropagation of Cannabis sativa L.: A review *Pharm Sci Asia* 2020; 47 (1), 21-29. DOI:10.29090/psa.2020.01.019.0030
- Boonsongcheep, P., & Pongkitwitoon, B. 2020. Factors affecting micropropagation of Cannabis sativa L.: A review *Pharm Sci Asia* 2020; 47 (1), 21-29. DOI:10.29090/psa.2020.01.019.0030
- Booth, J.K., Page, J.E., Bohlmann, J., 2017. Terpene synthases from Cannabis sativa. *PLoS One* 12, e0173911
- Braemer R, Paris M (1987) Biotransformation of cannabinoids by a cell suspension culture of Cannabis sativa L. *Plant Cell Rep* 6(2):150–152
- Braemer R, Paris M (1987) Biotransformation of cannabinoids by a cell suspension culture of Cannabis sativa L. *Plant Cell Rep* 6(2):150–152
- Casajuana Köguel, C., López-Pelayo, H., Balcells-Olivero, M.M., Colom, J., Gual, A., 2018. Psychoactive constituents of cannabis and their clinical implications: a systematic review. *Adicciones* 30, 140–151.



Cascio MG, Pertwee RG and Marini P. Chapter 9. The Pharmacology and Therapeutic Potential of Plant Cannabinoids. In Cannabis sativa L. - Botany and Biotechnology. Chandra S et al. (eds.), Springer International Publishing AG 2017.

Cervantes, J. 2007 marihuana: horticultura del cannabis. La biblia del cultivador Medico de interior y exterior ISBN-13: 978-1-878823-24-3 p 544.

Chaohua C, Gonggu Z, Lining Z, Chunsheng G, Qing T, Jianhua C, Xinbo G, Dingxiang P, Jianguang S (2016) A rapid shoot regeneration protocol from the cotyledons of hemp (*Cannabis sativa* L.). *Ind Crops Prod* 83:61–65

Chaohua C, Gonggu Z, Lining Z, Chunsheng G, Qing T, Jianhua C, Xinbo G, Dingxiang P, Jianguang S (2016) A rapid shoot regeneration protocol from the cotyledons of hemp (*Cannabis sativa* L.). *Ind Crops Prod* 83:61–65

Citti C, Braghirolic D, Vandellie MA, Cannazza G. Pharmaceutical and biomedical analysis of cannabinoids: A critical review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 147 (2018) 565–579

Clarke, R.C. (1981) *Marijuana Botany*. Ronin Publishing, San Francisco, CA.

Corda Alejandro y Fusero Marinano(2016): Punición a la Regulación: Políticas de cannabis en América Latina y el Caribe. https://www.tni.org/files/publication-downloads/informe_sobre_politicas_de_drogas_48.pdf.

De Backer B., B. Debrus, P. Lebrun, L. Theunis, N. Dubois, L. Decock, A. Verstraete, P. Hubert, C. Charlier, Innovative development and validation of an HPLC/DAD method for the qualitative and quantitative determination of major cannabinoids in cannabis plant material, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 877 (2009) 4115–4124.

Dennis, I., Whalley, B.J., Stephens, G.J., 2008. Effects of delta9-tetrahydrocannabivarin on [35S]GTPgammaS binding in mouse brain cerebellum and piriform cortex membranes. *Br. J. Pharmacol.* 154, 1349–1358

Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC (1988) Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol* 34:605–613 Howlett et al. 2002

Donaldson CW. Marijuana exposure in animals. [accessed November 18, 2019]; *Vet Med.* 2002 97:437–41



Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1ª ed. 2016). Disponible en www.eurachem.org

Fitzgerald KT, Bronstein AC, Newquist KL. Marijuana poisoning. *Top Companion Anim Med.* 2013;28:8–12

Giese MW, M.A. Lewis, L. Giese, K.M. Smith, Development and validation of a reliable and robust method for the analysis of cannabinoids and terpenes in cannabis, *J. AOAC Int.* 98 (2015) 1503–1522

Gilmore, S., Peakall, R., Robertson, J., 2003. Short tandem repeat (STR) DNA markers are hypervariable and informative in *Cannabis sativa*: implications for forensic investigations. *Forensic Sci. Int.* 131, 65–74.

Hanus, L.O., Meyer, S.M., Muñoz, E., Taglialatela-Scafati, O., Appendino, G., 2016. Phytocannabinoids: a unified critical inventory. *Nat. Prod. Rep.* 33, 1357–1392

Hazekamp, A., Sijrier, P. and Verpoorte, R. (2006) An Evaluation of the Quality of Medicinal Grade Cannabis in the Netherlands. *Cannabinoids*, 1, 1-9.

Huergo A. (2008) *Sativa cultivo interior* 336p ISBN 978-987-05-3961-2

Ibeas Bih, C., Chen, T., Nunn, A.V., Bazelot, M., Dallas, M., Whalley, B.J., 2015. Molecular targets of cannabidiol in neurological disorders. *Neurotherapeutics* 12, 699–730.

Itokawa H, Takeya K, Mihashi S (1977) Biotransformation of cannabinoid precursors and related alcohols by suspension cultures of callus induced from *Cannabis sativa* L. *Chem Pharm Bull* 25(8):1941–1946

Itokawa H, Takeya K, Mihashi S (1977) Biotransformation of cannabinoid precursors and related alcohols by suspension cultures of callus induced from *Cannabis sativa* L. *Chem Pharm Bull* 25(8):1941–1946

Iversen, L. (2007), *The science of marijuana*, Oxford University Press, Oxford.

Jiang Y, Zunmin XIA, Tang Y, Han Q, Han C (2015) Preliminary studies on the tissue culture of *Cannabis sativa* L. (Industrial hemp). *Agricultural. Sci Technol* 16(5):923–925

Jiang Y, Zunmin XIA, Tang Y, Han Q, Han C (2015) Preliminary studies on the tissue culture of *Cannabis sativa* L. (Industrial hemp). *Agricultural. Sci Technol* 16(5):923–925

Jiang, H.E., Li, X., Zhao, Y.X., Ferguson, D.K., Hueber, F., Bera, S.,



- Wang, Y.F., Zhao, L.C., Liu, C.J., Li, C.S., 2006. A new insight into *Cannabis sativa* (Cannabaceae) utilization from 2500-year-old Yanghai Tombs, Xinjiang, China. *J. Ethnopharmacol.* 108, 414–422.
- Jin, D., Jin, S., Chen, J. 2019. Cannabis Indoor Growing Conditions, Management Practices, and Post-Harvest Treatment: A Review . *American Journal of Plant Sciences.* 10, 925-946
- Klee, E.W., Schneider, H., Clark, K.J., Cousin, M.A., Ebbert, J.O., Hooten, W.M., Karpyak, V.M., Warner, D.O., Ekker, S.C., 2012. Zebrafish: a model for the study of addiction genetics. *Hum. Genet.* 131, 977–1008
- Lam, C.S., Rastegar, S., Strahle, U., 2006. Distribution of cannabinoid receptor 1 in the CNS of zebrafish. *Neuroscience* 138, 83–95
- Lata H, Chandra S, Khan I, ElSohly M (2009) Thidiazuron induced high-frequency direct shoot organogenesis of *Cannabis sativa* L. *In vitro Cell Dev-Pl* 45(1):12–19
- Lata H, Chandra S, Khan I, ElSohly M (2009) Thidiazuron induced high-frequency direct shoot organogenesis of *Cannabis sativa* L. *In vitro Cell Dev-Pl* 45(1):12–19
- Lata H, Chandra S, Khan IA, ElSohly MA (2010) High frequency plant regeneration from leaf derived callus of high delta (9)-tetrahydrocannabinol yielding *Cannabis sativa* L. *Planta Med* 76(14):1629–1633
- Lata H, Chandra S, Khan IA, ElSohly MA (2010) High frequency plant regeneration from leaf derived callus of high delta (9)-tetrahydrocannabinol yielding *Cannabis sativa* L. *Planta Med* 76(14):1629–1633
- Lata H, Chandra S, Techen N, Khan IA, ElSohly MA (2016) In vitro mass propagation of *Cannabis sativa* L.: A protocol refinement using novel aromatic cytokinin metatoplin and the assessment of eco-physiological, biochemical and genetic fidelity of micropropagated plants. *J Appl Res Med Aromat Plants* 3:18–26
- Lata H, Chandra S, Techen N, Khan IA, ElSohly MA (2016) In vitro mass propagation of *Cannabis sativa* L.: A protocol refinement using novel aromatic cytokinin metatoplin and the assessment of eco-physiological, biochemical and genetic fidelity of micropropagated plants. *J Appl Res Med Aromat Plants* 3:18–26
- Lata, H. Chandra, S., Ikhlas A. K and Mahmoud A. E. 2017. Micropropagation of *Cannabis sativa* L.—An Update. Springer International Publishing AG 2017. S.



- Chandra et al. (eds.), *Cannabis sativa* L. - Botany and Biotechnology, DOI 10.1007/978-3-319-54564-6_13 . Chapter 13 Lata,H. Chandra, S., Ikhlas A. K and Mahmoud A. E. 2017. Micropropagation of *Cannabis sativa*L. An Update. Springer International Publishing AG 2017. S. Chandra et al. (eds.), *Cannabis sativa* L. - Botany and Biotechnology. Chapter 13 Laun, A.S., Shrader, S.H., Brown, K.J., Song, Z.H., 2018. GPR3, GPR6, and GPR12 as novel molecular targets: their biological functions and interaction with cannabidiol. *Acta Pharmacol. Sin.* <https://doi.org/10.1038/s41401-018-0031-9>. Epub ahead of print
- Ley del Uso Medicinal de la Planta de Cannabis y sus derivados, Ley 27350, Honorable Congreso de la Nación, República Argentina (Abril 19, 2017).
- Li, H., 1974. An archaeological and historical account of Cannabis in China. *Econ. Bot.* 28, 437–448.
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI (1990) Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 346:561–564
- McPartland, J.M., 1997. Cannabis as repellent and pesticide. *J. Int. Hemp Assoc.* 4, 87–92
- McPartland, J.M., Glass, M., Matias, I., Norris, R.W., Kilpatrick, C.W., 2007. A shifted repertoire of endocannabinoid genes in the zebrafish (*Danio rerio*). *Mol. Genet. Genomics* 277, 555–570.
- Meijer E. P. M.; van dr Kamp H. J.; van Eeuwijk F. A. Characterisation of Cannabis accessions with regard to cannabinoid content in relation plant characters. *Euphytica* 62: 187–200; 1992. doi:10.1007/BF00041753.
- Meijer E. P. M.; van dr Kamp H. J.; van Eeuwijk F. A. Characterisation of Cannabis accessions with regard to cannabinoid content in relation plant characters. *Euphytica* 62: 187–200; 1992. doi:10.1007/BF00041753.
- Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis. NACIONES UNIDAS. Nueva York, 2010.
- Movahedi M, Ghasemi-Omran VO, Torabi S (2015) The effect of different concentrations of TDZ and BA on in vitro regeneration of Iranian Cannabis (*Cannabis sativa*) using cotyledon and epicotyl explants. *J Plant Mol Breed* 3(2):20–27

- Movahedi M, Ghasemi-Omran VO, Torabi S (2015) The effect of different concentrations of TDZ and BA on in vitro regeneration of Iranian Cannabis (*Cannabis sativa*) using cotyledon and epicotyl explants. *J Plant Mol Breed* 3(2):20–27
- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M (1993) Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 365:61–65.
- Oficina de Naciones Unidas contra la Drogas y el Delito (2016). Informe mundial sobre las drogas 2016. Resumen ejecutivo, Viena; ONUDD; https://www.unodc.org/doc/wdr2016/WDR_2016_ExSum_spanish.pdf.
- Oltrabella F, Melgoza A, Nguyen B, Guo S. Role of the endocannabinoid system in vertebrates: emphasis on the zebrafish model. *Dev Growth Differ.* 2017;59:194–210
- Pacifici R, E. Marchei, F. Salvatore, L. Guandalini, F.P. Busardò, S. Pichini, Evaluation of cannabinoids concentration and stability in standardized preparations of cannabis tea and cannabis oil by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Clin. Chem. Lab. Med.* 0 (2017) 1–9,
- Pate, D.W., 1994. Chemical ecology of cannabis. *J. Int. Hemp Assoc.* 2 (29), 32–37.
- Patel B, Wene D, Fan Z. Qualitative and quantitative measurement of cannabinoids in cannabis using modified HPLC/DAD method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 146 (2017) 15–23
- Pertwee RG (1997) Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol Ther* 74:129–180
- Pertwee RG (2005) Pharmacological actions of cannabinoids. In: Pertwee RG (ed) *cannabinoids*. Springer-Verlag, Heidelberg, pp 1-51
- Pertwee RG, Ross RA (2002) Cannabinoid receptors and their ligands. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 66:101–121. Review
- Pertwee, R.G., 2008. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: δ 9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ 9-tetrahydrocannabivarin. *Br. J. Pharmacol.* 153, 199–215
- Potter, D.J. (2009) *The Propagation, Characterisation and Optimisation of Cannabis Sativa L as a Phytopharmaceutical*. Ph.D. Thesis, King's College, London



Ramírez CL, Fanovich MA, Churio MS. Cannabinoids: extraction methods, analysis and physicochemical characterization, in: Atta-Ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier Science Pub, Amsterdam, 2019, pp. 143–173.

Romano LL, Hazekamp A. Cannabis oil: chemical evaluation of an upcoming cannabis-based medicine. *Cannabinoids* 2013;1:1–11.

Romano, B., Borrelli, F., Fasolino, I., Capasso, R., Piscitelli, F., Cascio, M., Pertwee, R., Coppola, D., Vassallo, L., Orlando, P., Di Marzo, V., Izzo, A., 2013. The cannabinoid TRPA1 agonist cannabichromene inhibits nitric oxide production in macrophages and ameliorates murine colitis. *Br. J. Pharmacol.* 169, 213–229

Romano, B., Pagano, E., Orlando, P., Capasso, R., Cascio, M.G., Pertwee, R., Marzo, V.D., Izzo, A.A., Borrelli, F., 2016. Pure Δ^9 -tetrahydrocannabivarin and a Cannabis sativa extract with high content in Δ^9 -tetrahydrocannabivarin inhibit nitrite production in murine peritoneal macrophages. *Pharmacol. Res.* 113(Pt A), 199–208

Russo EB. Clinical endocannabinoid deficiency reconsidered: current research supports the theory in migraine, fibromyalgia, irritable bowel, and other treatment-resistant syndromes. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2016;1:154–65

Russo, E.B., 2011. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br. J. Pharmacol.* 163, 1344–1364

Russo, E. B. and Guy, G. W. (2006), 'A tale of two cannabinoids: the therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol', *Medical Hypotheses* 66, pp. 234-246

Russo, E.B., Jiang, H.E., Li, X., Sutton, A., Carboni, A., del Bianco, F., Mandolino, G., Potter, D.J., Zhao, Y.X., Bera, S., Zhang, Y.B., Lü, E.G., Ferguson, D.K., Hueber, F., Zhao, L.C., Liu, C.J., Wang, Y.F., Li, C.S., 2008. Phytochemical and genetic analyses of ancient cannabis from Central Asia. *J. Exp. Bot.* 59, 4171–4182

Salzet M, Breton C, Bisogno T, Di Marzo V. Comparative biology of the endocannabinoid system possible role in the immune response. *Eur J Biochem.* 2000;267:4917–27

Sirikantaramas, S., Taura, F., 2017. Cannabinoids: biosynthesis and biotechnological applications. In: Chandra, S., Lata, H., ElSohly, M. (Eds.), *Cannabis sativa L.* –



Botany and Biotechnology. Springer, University of Illinois Press, Champaign, Illinois, United States

Stevens, C.J., Murphy, C., Roberts, R., Lucas, L., Silva, F., Fuller, D.Q., 2016. Between China and South Asia: a middle Asian corridor of crop dispersal and agricultural innovation in the bronze age. *Holocene* 26, 1541–1555

Swistock, B. (2016) Interpreting Irrigation Water Tests. Penn State Extension. <https://extension.psu.edu/interpreting-irrigation-water-tests>

Turner, J.C. and Mahlberg, P.G. (1984) Effects of Sample Treatment on Chromatographic Analysis of Cannabinoids in *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). *Journal of Chromatography A*, 283, 165-171.

Uso Medicinal de la Planta de Cannabis y sus derivados (reglamentación) Decreto 738/2017, Poder Ejecutivo Nacional, República Argentina (septiembre 22, 2017).

Veliky IA, Genest K (1972) Growth and metabolites of *Cannabis sativa* cell suspension cultures. *Lloydia* 35(4):450–456

Veliky IA, Genest K (1972) Growth and metabolites of *Cannabis sativa* cell suspension cultures. *Lloydia* 35(4):450–456.



ANEXO II RESOLUCION CPYGE SEDE ATLÁNTICAN° 005/2020

**EQUIPO INTERDISCIPLINARIO PROYECTO INTEGRAL DE CANNABIS
MEDICINAL**

DIRECTOR DEL PROYECTO

TORRES ANSELMO	DNI. N° 13.377.315
----------------	--------------------

GRUPO RESPONSABLE DEL PROYECTO

APELLIDO/S Y NOMBRE/S	DNI. N°
BARRIO Daniel Alejandro	22.766.122
OTERO Juan Manuel	24.752.643
ZUBILLAGA María Fany	29.034.271
ALVAREZ Marcelo Alejandro	17.454.319
PEILMAN Nancy Analía	32.362.132
FIGUEROA Ramiro Julian	31.794.958
CARMODY Carla Paola	28.616.403

INTEGRANTES DEL PROYECTO

APELLIDO/S Y NOMBRE/S	DNI. N°
GUARDIOLA RIVAS Fredy José	95.443.836
BOERI Patricia Alejandra	22.947.299
RIAT Martha Cecilia	16.757.083
DANKLMAIER Chistine Mohha	92.294.852
MARTINEZ Eduardo Enrique	14.199.530
PAMER Pamela Andrea	22.124.386
TOMBARI Andrea Diana	18.247.721



POLIZZI Daniela Lorena	23.867.492
MOLINA Lucas Matias	29.272.806
LEDER Cintia Vanesa	32.794.711
REINOSO Lucio Gabriel	30.062.016
FELLENZ Nicolás Antonio	23.270.196
BRITOS Paola Verónica	21.851.141
JARQUE Gabriel Dario	17.594.506
DEL BARRIO Ricardo Alfredo	12.439.372
CONTIGGIANI Federico Eduardo	28.063.308
PIZZINGRILI Paola	24.061.778
CARRASCO Agustina	33.772.310
SANOQUERA Lisi	32.718.958
LUNA Oscar Marcelo	11.597.015
OSORIO Javier Agustín	31.895.156
OSORIO Julio César	10.944.873
LUNA Martín Alejandro	29.940.824

