

Mini-revisión

11-Nor-9-carboxi- Δ^9 -tetrahidrocannabinol, un ubicuo cannabinoide aún bajo investigación. Una revisión de la literatura

István Ujváry, Franjo Grotenhermen

iKem BT, Budapest, Hungría
nova-Institut, Hürth, Alemania

Resumen

Ya están disponibles como medicamentos registrados en varios países el Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC) sintético, la planta de cannabis con calidad farmacéutica y formulaciones de extractos de cannabis bien definidos. En general se acepta que los principales efectos farmacológicos centrales y periféricos del THC están mediados por los receptores cannabinoides CB1 y CB2. Oxidaciones del THC mediadas por el citocromo P450 dan lugar al no psicoactivo 11-nor-9-carboxi-THC (THC-COOH) como principal metabolito. Se ha estudiado a fondo la farmacocinética del THC-COOH y este abundante metabolito ácido se ha convertido en marcador urinario establecido del consumo de cannabis en análisis forenses, clínicos y ambientales. Sorprendentemente, sin embargo, los datos sobre la actividad biológica de este ubicuo metabolito son escasos. Unos pocos estudios han examinado el efecto del THC-COOH en la biosíntesis de las prostaglandinas y otros eicosanoides, en los nervios sensoriales sensibles a la capsaicina, en la P-glicoproteína transportadora de múltiples fármacos, en los receptores cannabinoides y estrógenos in vitro, así como por sus efectos anti-cataléptico, analgésico, inhibidor del factor activador de las plaquetas y anti-inflamatorios in vivo; el THC-COOH también ha sido descrito como bloqueante de ciertos efectos del THC en el comportamiento en roedores. Por la presente, le ofrecemos una revisión de la literatura sobre los efectos farmacológicos descritos de THC-COOH y abogamos por la realización de más estudios para revelar cualquier posible participación de este abundante metabolito en el complejo farmacológico y los efectos terapéuticos ya probados de los preparados que contienen THC.

Palabras claves: cannabinoide, THC, metabolismo, ácido carboxílico, THC-COOH, farmacología.

Este artículo puede ser descargado, impreso y distribuido de forma gratuita con fines no lucrativos, siempre que el trabajo original sea correctamente citado (ver información sobre copyright más abajo). Disponible on-line en www.cannabis-med.org

Dirección del autor: István Ujváry, ujvary@iif.hu

Introducción

El Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC) (Figura 1) fue identificado hace cinco décadas por Gaoni y Mechoulam [24] como principal componente psicoactivo del *Cannabis sativa*, utilizado en preparados empleado en rituales, con fines terapéuticos y lúdicos, durante miles de años. Ya están disponibles como medicamentos, registrados en varios países, tanto el THC sintético como el cannabis herbal con calidad farmacéutica y

formulaciones de extractos de cannabis bien definidos. Amplios estudios sobre la farmacodinamia y la farmacocinética del THC han establecido que los efectos centrales y periféricos del THC están mediados principalmente por los receptores CB1 y CB2, pero la evidencia cada vez mayor indica que otras dianas también están involucradas en la farmacología multifacética del THC y otros cannabinoides. También está claro desde principios de la década de 1970 el metabolismo humano del THC. El Δ^9 -tetrahidrocannabinol-11-oico

(THC-11-oico o THC-COOH; Figura 2), dada su abundancia en los fluidos corporales, se ha convertido en marcador establecido de consumo de cannabis en análisis forenses, clínicos y ambientales. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre con los cannabinoides de la planta, la actividad biológica de este prominente metabolito no se ha investigado sistemáticamente. Aquí presentamos una revisión de la información disponible sobre las propiedades biológicas del THC-COOH, con énfasis en los estudios en humanos.

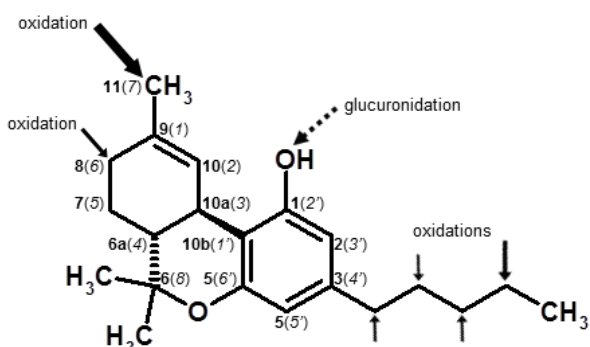


Figura 1. Estructura química del THC que muestra tanto la numeración dibenzopirano (números en negritas) como la antigua numeración terpeno (números en cursiva entre paréntesis). También se muestran las principales transformaciones metabólicas humana del THC. El tamaño de la flecha es proporcional a la cantidad del producto de biotransformación correspondiente en orina. Los productos de oxidación C-11 pueden formar ésteres y glucuronidos, no indicados (para más detalles, véase el texto).

Metodología

Se han realizado búsquedas bibliográficas exhaustivas mediante consultas textuales y estructurales en bases de datos electrónicas. Por lo tanto, las basadas en la estructura del THC-COOH (con estereoquímica no definida) en SciFinder® (CAS, American Chemical Society) y Reaxys® (Elsevier) concluyen en diciembre de 2013. Las búsquedas de texto para este período para 'ácido-tetrahidrocannabinol-7-oico' (según la numeración monoterpene utilizado hasta mediados de 1980) y 'ácido tetrahidrocannabinol-11-oico' como palabras clave se realizaron en PubMed (U.S. National Library of Medicine). Por otra parte se analizaron artículos de revistas recuperados, así como libros académicos sobre la marihuana y los cannabinoides en busca de posibles publicaciones adicionales. Los datos que aparecen sólo en las patentes normalmente no han sido utilizados en esta revisión.

Metabolismo de THC

Tras los estudios iniciales en animales en la década de 1970 en las que se observaron considerables variaciones metabólicas entre las distintas especies [2,32], también fueron aclarados el metabolismo y la dis-

tribución del THC en humanos y el tema ha sido ampliamente revisado [1,2,30,31,33,37,54,76,77,82,85]. La Figura 1 resume las principales vías metabólicas. Al principio surgen los metabolitos de la Fase I de las oxidaciones alílicas secuenciales, así como de la hidroxilación y la β -oxidación de la cadena lateral pentilo del THC y todos parecen estar catalizados por isoenzimas del citocromo P450 principalmente en el hígado [7,34,63,81]. Tal metabolismo también se encontró en cultivos de células cerebrales [53,80]. El metabolito oxidativo inicial del THC, es decir, el 11-hidroxi-THC (11-OH-THC), es psicoactivo. La oxidación adicional del 11-OH-THC da lugar, vía el correspondiente aldehído transitorio [5,79], al menos lipófilo y no psicoactivo THC-COOH [17,75] (Figura 2). Algunos de los metabolitos oxidados, incluyendo al THC-COOH, se conjugan posteriormente para formar glucuronidos como metabolitos de Fase II [26,51,83]. En roedores también se han detectado sulfatos y ácidos grasos de ésteres conjugados [37,48]. El THC-COOH es el metabolito más abundante excretado en la orina y las heces, ya sea como ácido libre o como éster conjugado en forma de glucuronido, que se refleja en su presencia en las aguas residuales urbanas y algunas superficiales en niveles de decenas de ng/l [18,44,62].

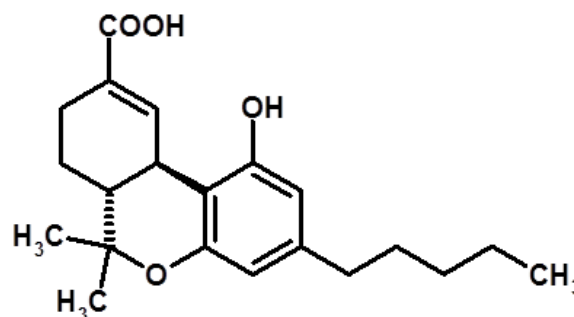


Figura 2. Estructura del THC-COOH.
Formula molecular: C₂₁H₂₈O₄
Peso molecular: 344.4

Propiedades químicas y fisicoquímicas del THC-COOH

Nombres

Nombre sistemático IUPAC: ácido (6aR,10aR)-1-hidroxi-6,6-dimetil-3-pentil-6a,7,8,10a-tetrahidro-6H-benzo[c]cromeno-9-carboxílico

Nombre del Chemical Abstract Service (antes de 1972): ácido (6aR,10aR)-6a,7,8,10a-tetrahidro-1-hidroxi-6,6-dimetil-3-pentil-6H-dibenzo [b,d]piran-9-carboxílico

Otros nombres: ácido (-)-11-nor- Δ^9 -tetrahidrocannabinol-9-carboxílico; (-)-11-nor-9-carboxi- Δ^9 -tetrahidrocannabinol

Propiedades fisicoquímicas

Sólido blanco, punto de fusión: 205-207 °C [61]; 216-218 °C [55]

Rotación óptica: $[\alpha]_D^{27} -160$ (c 0.00515, EtOH) [66], $[\alpha]_D^{25} -164$ (c 0.15, CHCl₃) [41]

El metabolito anfifílico está dotado de un grupo de cabeza polar (-COOH), un núcleo hidroxidibenzopirano rígido capaz de formar enlaces de H, y una cadena lateral lipófila flexible. LogP: 2.24 (a pH=7.4) [68] (se han descrito para el THC valores de logP de 3.8 [25] y de 4.1 [72]). Superficie polar: 70 Å² (calculado por el programa Maestro 9.4, Schrödinger, Nueva York). El área de superficie polar mide la propiedad de transporte de un fármaco a través de las membranas biológicas. Los fármacos que actúan sobre el sistema nervioso central típicamente tienen un área de superficie polar por debajo de 70 Å²; sustancias administradas por vía oral con un área de superficie polar mayor de 120 Å² no cruzan la barrera hematoencefálica por transporte pasivo [43,74].

Farmacocinética del THC y sus metabolitos en humanos

Dependiendo de la ruta y frecuencia de administración de los preparados que contienen THC, el THC-COOH suele estar presente en el plasma sanguíneo a concentraciones de 3-50 ng/ml (0.01-0.44 nM). El THC-COOH comienza a aparecer en el plasma aproximadamente 30 minutos después de la dosificación, presenta picos plasmáticos entre los 60-180 minutos y se mantiene elevado (>20 ng/ml) durante 10-20 horas tanto si la preparación de THC fue administrada vía oral, intravenosa o fumada [38,47,76]. En general, la concentración plasmática de THC-COOH libre es menor que la de su conjugado glucurónico y este último también es más abundante en la orina y las heces [47,69,78]. Un estudio humano precoz, sin embargo, señaló que por vía intravenosa una inyección de THC-COOH (20 mg) desapareció lentamente (>24 horas) de la sangre y no se encontró signos de un posterior metabolismo oxidativo [76]. El polimorfismo genético de las enzimas CYP450 puede influir en el metabolismo oxidativo del THC y, en consecuencia, los niveles en sangre del THC-COOH [63]. En un estudio reciente, después de siete días de la administración oral continua de THC (2-7 dosis orales diarias de 20 mg en cápsulas de Marinol®), la concentración plasmática media de THC-COOH era de 327 ng/ml con aproximadamente la presencia en igual cantidad de su glucurónico [65]. Al aplicar nebulizaciones en la mucosa oral de 5.4 y 16 mg de THC (en una mezcla de 1:1 de THC y cannabidiol (CBD), Sativex®), las concentraciones plasmáticas de THC-COOH respectivas fueron aproximadamente de 45-105 y 70-120 ng/ml durante el período de 2-6 horas posteriores a la administración [42]. Un estudio sobre farmacocinética humana con THC-COOH (5 mg, i.v. más de 10 minutos) indica la concentración sérica máxima media de 337 ng/ml, seguido

de una rápida disminución por debajo de 50 ng/ml después de 5 horas; la distribución completa de la droga duró 12 horas y la vida media de eliminación fue relativamente corta (~17 horas) [27].

Estudios que implican el consumo "pasivo" de THC

Cuando se les administró THC (0.3 mg/kg, i.v.) a monas rhesus embarazada terminales, hubo una insignificante transferencia de THC-COOH del plasma materno (44 ng/ml de concentración máxima) al fetal (< 2.0 ng/ml) y no se detectó ningún metabolito ácido ni en la placenta ni en los tejidos fetales estudiados [4]. Los análisis de drogas de la placenta de mujeres (n = 64) que voluntariamente interrumpieron su embarazo en el primer trimestre indican un caso de presencia de THC-COOH en 123 ng/g [40]. Los datos de la leche de una madre fumadora de marihuana dio 60, 1.1 y 1.6 ng/ml de THC, 11-OH-THC y THC-COOH, respectivamente, mientras que la muestra fecal completa del bebé contenía 347, 67 y 611 ng de THC, 11-OH-THC y THC-COOH [60]. Un inusual estudio observó que la ingestión del THC-COOH presente en la leche de los búfalos que pastan en campos de cáñamo (a nivel medio de 51 ng/ml) provocaba la detección de dicho metabolito en escasa cantidad (8 y 27 ng/ml) en la orina de algunos de los niños que la tomaban [3]. En un estudio de evaluación de la transferencia placentaria de los cannabinoides de las mujeres embarazadas consumidoras de marihuana, la concentración de THC-COOH en la sangre del cordón umbilical en el parto varió desde 0.4 hasta 18 ng/ml, de 4 a 7 veces menor que en la sangre materna [6]. Un análisis reciente de 16 segmentos de cordón umbilical detectó THC-COOH en siete muestras (rango de concentración: 0.07 a 6.1 ng/g) [19]. En las primeras heces de los recién nacidos de mujeres embarazadas consumidoras de cannabis, el contenido total de THC-COOH del meconio varió de 5 a 250 ng/g [21,28,58]. En una serie de casos de autopsias con prueba de drogas previas positivas a los cannabinoides (n = 30), la media de las concentraciones de THC-COOH de sangre cardiaca y periférica fueron de 57 y 61 ng/ml, respectivamente, mientras que los valores correspondientes para el THC fueron 8.0 y 16 ng/ml [49]. Los análisis de los fluidos y tejidos post mortem mostraron que el THC-COOH fue particularmente abundante en la bilis (hasta 1500 ng/g) [22,29].

Interacción con otros medicamentos

En los seres humanos los inhibidores de las enzimas CYP450, como los barbitúricos, el ketoconazol, la rifampicina, el sulfafenazol, el SKF525A y el CBD, pueden obstaculizar el metabolismo oxidativo del THC y, por lo tanto, la formación de THC-COOH [7,25,34,35,67,70,81]. La inducción de alcohol deshidrogenasa dependiente del CYP450 por ciertos esteroides, sin embargo, puede llevar a niveles elevados de metabolitos del THC in vivo [23].

Estudios sobre actividad biológica

En comparación con el THC, son relativamente pocos los estudios publicados que han examinado la farmacología del THC-COOH, ya sea *in vitro* como *in vivo*. Lo que sigue es una relación de las publicaciones de estudios *in vitro*, así como experimentos con animales y humanos. (Cabe señalar que prácticamente no se sabe nada acerca de la actividad biológica de los conjugados glucurónidos.)

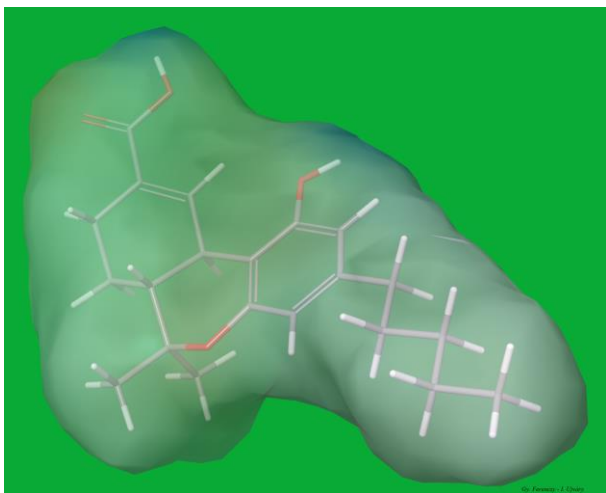


Figura 3. Imagen del modelo molecular de THC-COOH con su superficie de potencial electrostático.

Δ^8 -THC-COOH y ácido ajulémico - una observación con moraleja

Especulando sobre si algunos de los efectos conflictivos del THC observados *in vivo* se debían a sus metabolitos, Burstein [10] inició estudios con THC-COOH y sus análogos. Estas investigaciones han culminado en el desarrollo del ácido ajulémico, que es un homólogo Δ^8 -isómero del THC-COOH, como un cannabinoide analgésico y antiinflamatorio [9]. Varios otros estudios metabólicos también han utilizado el más fácilmente disponible Δ^8 -THC (véase, por ejemplo, [86]). Sin embargo, los cambios estructurales (isomerización de doble enlace y homologización) parecen afectar sustancialmente la bioactividad, por lo que la plétora de actividad biológica de datos acumulados para los sintéticos Δ^8 -THC-COOH y ácido ajulémico no son aplicables al genuino metabolito del THC, es decir, al THC-COOH, y deben interpretarse con cautela.

Estudios de los receptores

En un estudio anterior con varios cannabinoides, Nye et al [56] examinó la inhibición del acople de un análogo del THC soluble en agua a las membranas neuronales de rata y la inhibición de las contracciones evocadas eléctricamente en cultivos de fleon de co-

baya. Para la membrana, el THC-COOH presentó baja afinidad ($K_i = 452$ nM), mientras que para la preparación de fleon fue inactivo ($IC_{50} > 10,000$ nM); en el caso del THC, los respectivos valores de K_i y IC_{50} eran 27 y 100 nM. En un estudio posterior con el receptor de cerebro cortical de rata purificado, el THC-COOH no mostró actividad ($K_i > 10,000$ nM) [20].

Estudios *in vitro* y en animales

A diferencia del THC, el metabolito ácido (a 3 μ M) no activa los nervios sensoriales sensibles a la capsaicina como se demuestra por su incapacidad para producir la vasodilatación de las arterias en preparaciones de rata [88]. El THC-COOH (a 20 μ M) no logró competir con el estradiol en una preparación de receptor de estrógenos uterino de rata [64]. Entre los cannabinoides probados como inhibidores potenciales del transportador de flujo de medicamentos P-glicoproteína (Pgp), responsable de la resistencia multi-fármacos de las células tumorales y normales, el THC-COOH se comportó como un sustrato y fue el más activo en la estimulación de la ATPasa dependiente de la Pgp (incremento de 1.3 veces); el CDB fue un inhibidor [87]. El ácido tampoco pudo inhibir otro tipo de proteína transportadora multi-fármacos [36].

Una serie de experimentos de laboratorio realizados por Burstein y colaboradores [10] reveló una compleja relación farmacocinética-farmacodinámica entre el THC y su metabolito ácido debido a su interferencia con la vía eicosanoide. En un estudio inicial, el THC-COOH no se mostró analgésico en el ratón (ensayo de la placa caliente, máx. dosis de 50 mg/kg s.c.) [84], pero en uno posterior presentó propiedades analgésicas y anti-inflamatorias al parecer por inhibición de la ciclooxigenasa y activación de la 5-lipoxigenasa, es decir, la producción de eicosanoides pro-inflamatorios (por ejemplo, prostaglandinas) a partir del ácido araquidónico (AA) en preparaciones de fibroblastos de pulmón humano, de cerebro de ratón y por enzimas purificadas [11,14]. Así pues, este efecto contrarresta la liberación de AA estimulada por el THC. El efecto del THC-COOH en la liberación de AA de las membranas parece depender del tipo de célula y las condiciones del experimento: en células de neuroblastoma intactos el metabolito es menor estimulador de la liberación de ácido araquidónico que el THC [16], mientras que en la preparación de sinaptosomas de cerebro la estimulación inducida por fármacos de las fosfolipasas A2 y C conducen a un aumento significativo en los niveles de AA [39]. El THC-COOH también inhibió la 15-lipoxigenasa a nivel sub-micromolar *in vitro*, lo que indica potencial anti-aterosclerótica *in vivo* [71].

En el ratón, por vía oral el THC-COOH fue ligeramente más activo que el THC en la prevención del edema inducido por el factor plaquetario y de la mortalidad, indicando de nuevo su potencial implicación en la acción anti-inflamatoria y anti-asmática del fitocannabinoide [12]. El THC-COOH (10 mg/kg, por vía oral) exhibió actividad analgésica en el ratón (ensayo de la

placa caliente) con un inicio más temprano en comparación con cualquiera de los enantiómeros del THC, lo que indica la participación del metabolito en los efectos anti-nociceptivos del THC [13]. Además, a diferencia de la aspirina y la indometacina, el THC-COOH (50 mg/kg) no fue ulcerogénico cuando fue administrado vía endo-gástrica a ratas [8]. Curiosamente no sólo el THC-COOH sino también su enantiómero tenían efectos anti-inflamatorios tópicos en el ensayo de edema de oreja inducida químicamente (PMA) en el ratón [73]. Después de la administración oral a ratones, el THC-COOH no fue cataléptico [13] e impidió la catalepsia inducida por THC [15]. Dado que sólo una fracción insignificante (0.2%) de una inyección de THC-COOH alcanza el cerebro, se sugirió un mecanismo de acción periférica para este efecto anti-cataléptico. En el ensayo de tetrada con ratones, el THC-COOH fue inactivo ($ED_{50} > 52$ mg/kg, i.v.); en ratas, sin embargo, a la dosis de 2.8 mg/kg la inyección indujo una inmovilidad sostenida semejante a la provocada por el THC [50].

En la prueba del laberinto elevado con ratones el THC-COOH a dosis de hasta 20 mg/kg (i.p.) no fue ansiolítico ni ansiogénico, pero abolió el efecto ansiogénico sobre el comportamiento del THC [57]. El efecto sobre el comportamiento similar al diazepam tanto de la nabilona como del CDB, mostrados en esta serie de ensayos, fueron bloqueados por el THC-COOH. En este estudio, sin embargo, el ácido no pudo evitar los efectos catalépticos del THC. El isómero Δ^8 -THC-COOH no parece presentar ninguna actividad conductual manifiesta en el mono rhesus [52].

En una preparación de glándula pineal de rata el THC-COOH, el THC, el CBD y el cannabinoide atenuaron la biosíntesis de la melatonina por reducción de la actividad de la araquilamina N-acetiltransferasa regulada por la norepinefrina por un mecanismo independiente del receptor CB [45]. En cultivos de giro dentado rico en receptores NMDA lesionados mediante excitotoxicidad, el THC-COOH redujo el número de células microgliales pero, a diferencia del 2-AG, no fue neuroprotector [46].

Estudios en humanos

Los estudios (psico)farmacológicos en humanos con THC-COOH son escasos. Al igual que el isómero Δ^8 -THC-COOH en monos (ver arriba), en humanos el THC-COOH (20 mg administrados por vía intravenosa más de 8 minutos) no dio lugar a ningún efecto fisiológico observable, ni cambios en la frecuencia cardíaca ni sensación de "colocón" semejante a la marihuana [59]. En un estudio ya mencionado sobre la farmacocinética del THC-COOH (5 mg, i.v.) [27], no se observaron cambios en los parámetros del ECG, pero dos de los 10 participantes experimentaron efectos adversos: uno dolor de cabeza y náuseas transitoria 7 horas después de la administración del fármaco, mientras que el otro sudor nocturno dos días después del experimento. Al tiempo que demuestran que el THC-COOH carece de psicoactividad, ninguno de estos estudios, sin

embargo, fueron diseñados para descubrir alguna propiedad terapéutica (o, en su caso, dañina) de este metabolito.

Resumen

La revisión de la literatura sobre el THC-COOH indica que las propiedades farmacológicas de este metabolito, no psicoactivo pero destacado, han sido incompletas y - en opinión de los autores - insuficientemente identificadas. Las principales preguntas sin respuesta son: ¿Podría alguno de los efectos farmacológicos observados en el THC ser del THC-COOH? ¿En qué medida el THC-COOH afecta a la actividad biológica de los preparados que contienen THC? Esperemos que futuros estudios revelen cualquier posible participación de este abundante y duradero metabolito en el complejo farmacológico y en los efectos terapéuticos demostrados de los medicamentos que contienen THC. En otras palabras: ¿Podría ser el THC un potencial profármaco a otra entidad farmacológica?

Agradecimientos

György Ferenczy, por la asistencia informática.

Publicación anterior

Este trabajo está basado en un póster presentado en el 7º Congreso sobre Cannabinoides en Medicina, Asociación Internacional por los Medicamentos Cannabinoides, 27-28 de septiembre de 2013, Colonia, Alemania.

Referencias

1. Agurell S, Gillespie H, Halldin M, Hollister LE, Johansson E, Lindgren JE, Ohlsson A, Szirmai M, Widman M. A review of recent studies on the pharmacokinetics and metabolism of delta-1-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and cannabinoide in man. In: Harvey DJ, editor. *Marihuana '84: Proceedings of the Oxford Symposium on Cannabis*. Oxford: IRL Press; 1985. pp. 49-62.
2. Agurell S, Halldin M, Lindgren J-E, Ohlsson A, Widman M, Gillespie H, Hollister L. Pharmacokinetics and metabolism of Δ^1 -tetrahydrocannabinol and other cannabinoids with emphasis on man. *Pharmacol Rev*. 1986;38(1):21-43.
3. Ahmad GR, Ahmad N. Passive consumption of marijuana through milk: a low level chronic exposure to delta-9-tetrahydrocannabinol (THC). *Clin Toxicol*. 1990;28(2):255-60.
4. Bailey JR, Cunney HC, Paule MG, Slikker W Jr. Fetal disposition of Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) during late pregnancy in the rhesus monkey. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1987;90(2): 315-21.
5. Ben-Zvi Z, Burstein S. 7-Oxo- Δ^1 -tetrahydrocannabinol: a novel metabolite of Δ^1 -tetrahydrocannabinol. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1974;8(2):223-9.

6. Blackard C, Tennes K. Human placental transfer of cannabinoids. *N Engl J Med.* 1984;311(12):797.
7. Bland TM, Haining RL, Tracy TS, Callery PS. CYP2C-catalyzed delta(9)-tetrahydrocannabinol metabolism: Kinetics, pharmacogenetics and interaction with phenytoin. *Biochem Pharmacol.* 2005;70(7):1096-103.
8. Burstein S. Delta 1-THC-7-oic acid and analgesic and anti-inflammatory agents. US Patent 4,847,290. July 11, 1989.
9. Burstein S. Ajulemic acid (IP-751): synthesis, proof of principle, toxicity studies, and clinical trials. *AAPS J.* 2005;7(1):E143-8.
10. Burstein SH. The cannabinoid acids: nonpsychoactive derivatives with therapeutic potential. *Pharmacol Ther.* 1999;82(1):87-96.
11. Burstein SH. Inhibitory and stimulant effects of cannabinoids on eicosanoid synthesis. In: Rapaka RS, Makriyannis A, editors. *Structure-activity relationships of the cannabinoids: NIDA Research Monographs Vol. 79.* Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office; 1987. pp. 158-72.
12. Burstein SH, Audette CA, Doyle SA, Hull K, Hunter SA, Latham V. Antagonism to the actions of platelet activating factor by a nonpsychoactive cannabinoid. *J Pharmacol Exp Ther.* 1989;251(2):531-5.
13. Burstein SH, Hull K, Hunter SA, Latham V. Cannabinoids and pain responses: a possible role for prostaglandins. *FASEB J.* 1988;2(14):3022-6.
14. Burstein S, Hunter SA, Latham V, Renzulli L. Prostaglandins and cannabis. XVI. Antagonism of Δ^1 -tetrahydrocannabinol action by its metabolites. *Biochem Pharmacol.* 1986;35(15):2553-8.
15. Burstein S, Hunter SA, Latham V, Renzulli L. A major metabolite of Δ^1 -tetrahydrocannabinol reduces its cataleptic effect in mice. *Experientia.* 1987;43(4):402-3.
16. Burstein S, Hunter SA, Ozman K, Renzulli L. In vitro models of cannabinoid-induced psychoactivity. In: DJ Harvey DJ, editor. *Marihuana '84: Proceedings of the Oxford Symposium on Cannabis.* Oxford: IRL Press; 1985. pp. 399-406.
17. Burstein S, Rosenfeld J, Wittstruck T. Isolation and characterization of two major urinary metabolites of Δ^1 -tetrahydrocannabinol. *Science.* 1972;176(4033):422-3.
18. Castiglioni S, Zuccato E, Fanelli R, editors. *Illicit drugs in the environment: occurrence, analysis, and fate using mass spectrometry.* Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; 2011.
19. Chittamma A, Marin SJ, Williams JA, Clark C, McMillin GA. Detection of in utero marijuana exposure by GC-MS, ultra-sensitive ELISA and LC-TOF-MS using umbilical cord tissue. *J Anal Toxicol.* 2013;37(7):391-4.
20. Compton DR, Rice KC, de Costa BR, Razdan RK, Melvin LS, Johnson MR, Martin BR. Cannabinoid structure-activity relationships: correlation of receptor binding and in vivo activities. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993;265(1):218-26.
21. ElSohly MA, Feng S. Δ^9 -THC metabolites in meconium: Identification of 11-OH- Δ^9 -THC, 8 β ,11-diOH- Δ^9 -THC, and 11-nor- Δ^9 -THC-9-COOH as major metabolites of Δ^9 -THC. *J Anal Toxicol.* 1998;22(4):329-35.
22. Fabritius M, Staub C, Mangin P, Giroud C. Distribution of free and conjugated cannabinoids in human bile samples. *Forensic Sci Int.* 2012;223(1-3):114-8.
23. Funahashi T, Tanaka Y, Yamaori S, Kimura T, Matsunaga T, Ohmori S, Kageyama T, Yamamoto I, Watanabe K. Stimulatory effects of testosterone and progesterone on the NADH- and NADPH-dependent oxidation of 7 β -hydroxy- Δ^8 -tetrahydrocannabinol to 7-oxo- Δ^8 -tetrahydrocannabinol in monkey liver microsomes. *Drug Metabol Dispos.* 2005;20(5):358-67.
24. Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc.* 1964;86(8):1646-7.
25. Gill EW, Jones G. Brain levels of Δ^1 -tetrahydrocannabinol and its metabolites in mice—Correlation with behaviour, and the effect of the metabolic inhibitors SKF 525A and piperonyl butoxide. *Biochem Pharmacol.* 1972;21(16):2237-48.
26. Giroud C, Ménétrey A, Augsburger M, Buclin T, Sanchez-Mazas P, Mangin P. Δ^9 -THC, 11-OH- Δ^9 -THC and Δ^9 -THCCOOH plasma or serum to whole blood concentrations distribution ratios in blood samples taken from living and dead people. *Forensic Sci Int.* 2001;123(2-3):159-64.
27. Glaz-Sandberg A, Dietz L, Nguyen H, Oberwittler H, Aderjan R, Mikus G. Pharmacokinetics of 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (CTHC) after intravenous administration of CTHC in healthy human subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;82(1):63-9.
28. Gray TR, Eiden RD, Leonard KE, Connors GJ, Shisler S, Huestis MA. Identifying prenatal cannabis exposure and effects of concurrent tobacco exposure on neonatal growth. *Clin Chem.* 2010;56(9):1442-50.
29. Gronewold A, Skopp G. A preliminary investigation on the distribution of cannabinoids in man. *Forensic Sci Int.* 2011;210(1-3):e7-e11.
30. Grotenhermen F. Clinical pharmacokinetics of cannabinoids. *J Cannabis Ther.* 2003;3(1):3-51.
31. Harvey DJ. Absorption, distribution, and biotransformation of the cannabinoids. In: Nahas GG, Sutin KM, Harvey DJ, Agurell S, editors. *Marihuana and medicine.* Totowa, NJ: Humana Press Inc; 1999. pp. 91-103.

32. Harvey DJ, Brown NK. Comparative in vitro metabolism of the cannabinoids. *Pharmacol Biochem Behav.* 1991;40(3):533-40.
33. Harvey DJ, Paton WDM. Metabolism of the cannabinoids. *Rev Biochem Toxicol.* 1984;6:221-64.
34. Hawksworth G, McArdle K. Metabolism and pharmacokinetics of cannabinoids, In: Guy GW, Whittle BA, Robson PJ, editors. *The medicinal uses of cannabis and cannabinoids.* London: Pharmaceutical Press; 2004. pp. 205-28.
35. Ho BT, Estevez VS, Englert LF. Effect of SKF-525-A on the metabolism of (-)- Δ^9 -tetrahydrocannabinol in the rat brain and liver. Report of the Thirty-sixth annual scientific meeting, Committee on Problems of Drug Dependence. National Academy of Sciences, National Research Council. 1974. pp. 925-30.
36. Holland ML, Lau DTT, Arnold JC. The multi-drug transporter ABCG2 (BCRP) is inhibited by plant-derived cannabinoids. *Br J Pharmacol.* 2007;152(5):815-24.
37. Huestis MA. Human cannabinoid pharmacokinetics. *Chem Biodiv.* 2007;4(8):1770-804.
38. Huestis MA, Henningfield JE, Cone EJ. Blood cannabinoids. I. Absorption of THC and formation of 11-OH-THC and THCCOOH during and after smoking marijuana. *J Anal Toxicol.* 1992;16(5):276-82.
39. Hunter SA, Burstein S, Renzulli L. Cannabinoid modulated phospholipase activities by mouse brain cellular subfractions. In: Harvey, editor. *Marihuana '84: Proceedings of the Oxford Symposium on Cannabis.* Oxford: IRL Press; 1985. pp. 245-52.
40. Joya X, Pujadas M, Falcón M, Civit E, Garcia-Algar O, Vall O, Pichini S, Luna A, de la Torre R. Gas chromatography-mass spectrometry assay for the simultaneous quantification of drugs of abuse in human placenta at 12th week of gestation. *Forensic Sci Int.* 2010;196(1-3):38-42.
41. Kachensky DF, Hui RAHF. Preparation of racemic, (-)- and (+)-11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid. *J Org Chem.* 1997;62(20):7065-8.
42. Karschner EL, Darwin WD, Goodwin RS, Wright S, Huestis MA. Plasma cannabinoid pharmacokinetics following controlled oral Δ^9 -tetrahydrocannabinol and oromucosal cannabis extract. *Clin Chem.* 2011;57(1):66-75.
43. Kelder J, Grootenhuis PDJ, Bayada DM, Delbressine LPC, Ploemen J-P. Polar molecular surface as a dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drugs. *Pharm Res.* 1999;16(10):1514-9.
44. Khan U, Nicell JA. Sewer epidemiology mass balances for assessing the illicit use of methamphetamine, amphetamine and tetrahydrocannabinol. *Sci Total Environ.* 2012;421-422:144-62.
45. Koch M, Dehghani F, Habazettl I, Schomerus C, Korf H-W. Cannabinoids attenuate norepinephrine-induced melatonin biosynthesis in the rat pineal gland by reducing arylalkylamine *N*-acetyltransferase activity without involvement of cannabinoid receptors. *J Neurochem.* 2006;98(1):267-78.
46. Kreutz S, Koch M, Ghadban C, Korf H-W, Dehghani F. Cannabinoids and neuronal damage: Differential effects of THC, AEA and 2-AG on activated microglial cells and degenerating neurons in excitotoxically lesioned rat organotypic hippocampal slice cultures. *Exp Neurol.* 2007;203(1):246-57.
47. Law B, Mason PA, Moffat AC, Gleadle RI, King LJ. Forensic aspects of the metabolism and excretion of cannabinoids following oral ingestion of cannabis resin. *J Pharm Pharmacol.* 1984;36(5):289-94.
48. Leighty EG, Fentiman AF Jr, Foltz RL. Long-retained metabolites of Δ^9 - and Δ^8 -tetrahydrocannabinols identified as novel fatty acid conjugates. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1976;14(1):13-28.
49. Lemos NP, Ingle EA. Cannabinoids in postmortem toxicology. *J Anal Toxicol.* 2011;35(7):394-401.
50. Martin BR, Compton DR, Prescott WR, Barrett RL, Razdan RK. Pharmacological evaluation of dimethylheptyl analogs of Δ^9 -THC: reassessment of the putative three-point cannabinoid-receptor interaction. *Drug Alcohol Depend.* 1995;37(3):231-40.
51. Mazur A, Lichti CF, Prather PL, Zielinska AK, Bratton SM, Gallus-Zawada A, Finel M, Miller GP, Radomińska-Pandya A, Moran JH. Characterization of human hepatic and extrahepatic UDP-glucuronosyltransferase enzymes involved in the metabolism of classic cannabinoids. *Drug Metab Dispos.* 2009;37(7):1496-504.
52. Mechoulam R, Edery H. Structure-activity relationships in the cannabinoid series. In: Mechoulam R, editor. *Marijuana: chemistry, pharmacology, metabolism, and clinical effects.* New York: Academic Press; 1973. pp. 101-36.
53. Monnet-Tschudi F, Hazekamp A, Perret N, Zurich M-G, Mangin P, Giroud C, Honegger P. Delta-9-tetrahydrocannabinol accumulation, metabolism and cell-type-specific adverse effects in aggregating brain cell cultures. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008;228(1):8-16.
54. Musshoff F, Madea B. Review of biological matrices (urine, blood, hair) as indicators of recent or ongoing cannabis use. *Ther Drug Monit.* 2006;28(2):155-63.
55. Nikas SP, Thakur GA, Parrish D, Alapafuja SO, Huestis MA, Makriyannis A. A concise methodology for the synthesis of (-)- Δ^9 -tetrahydrocannabinol and (-)- Δ^9 -tetrahydrocannabivarin me-

- tabolites and their regiospecifically deuterated analogs. *Tetrahedron*. 2007;63(34):8112-23.
56. Nye JS, Seltzman HH, Pitt CG, Snyder SH. High-affinity cannabinoid binding sites in brain membranes labeled with [³H]-5'-trimethylammonium Δ^8 -tetrahydrocannabinol. *J Pharmacol Exp Ther*. 1985;234(3):784-91.
 57. Onaivi ES, Green MR, Martin BR. Pharmacological characterization of cannabinoids in the elevated plus maze. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990;253(3):1002-9.
 58. Ortigosa S, Friguls B, Joya X, Martinez S, Mariño ML, Alameda F, Vall O, Garcia-Algar O. Feto-placental morphological effects of prenatal exposure to drugs of abuse. *Reprod Toxicol*. 2012;34(1):73-9.
 59. Perez-Reyes M. Pharmacodynamics of certain drugs of abuse. In: Barnett G, Chiang CN, editors. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of psychoactive drugs*. Foster City, CA: Biomedical Publications; 1985. pp. 287-310.
 60. Perez-Reyes M, Wall ME. Presence of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in human milk. *N Engl J Med*. 1982;307(13):819-20.
 61. Pitt CG, Fowler MS, Sathe S, Srivastava SC, Williams DL. Synthesis of metabolites of Δ^9 -tetrahydrocannabinol. *J Am Chem Soc*. 1975;97(13):3798-802.
 62. Racamonde I, Villaverde-de-Sáa E, Rodil R, Quintana JB, Cela R. Determination of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol in water samples by solid-phase microextraction with on-fiber derivatization and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2012;1245:167-74.
 63. Sachse-Seeboth C, Pfeil J, Sehrt D, Meineke I, Tzvetkov M, Bruns E, Poser W, Vormfelde SV, Brockmöller J. Interindividual variation in the pharmacokinetics of Δ^9 -tetrahydrocannabinol as related to genetic polymorphisms in CYP2C9. *Clin Pharmacol Ther*. 2009;85(3):273-6.
 64. Sauer MA, Rifka SM, Hawks RL, Cutler GB, Loriaux DL. Marijuana: interaction with the estrogen receptor. *J Pharmacol Exp Ther*. 1983;224(2):404-7.
 65. Schwilke EW, Schwöpe DM, Karschner EL, Lowe RH, Darwin WD, Kelly DL, Goodwin RS, Gorelick DA, Huestis MA. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC), 11-hydroxy-THC, and 11-nor-9-carboxy-THC plasma pharmacokinetics during and after continuous high-dose oral THC. *Clin Chem*. 2009;55(12):2180-9.
 66. Siegel C, Gordon PM, Razdan RK. Studies on the synthesis of (-)-11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) and related compounds: an improved oxidative procedure. *Synthesis*. 1991;(10):851-3.
 67. Siemens AJ. Effects of cannabis in combination with ethanol and other drugs. In: Petersen RC, editor. *Marijuana. research findings: 1980*, NIDA Research Monograph 31. Washington, DC: U.S. Government Printing Office; 1980. pp. 167-98.
 68. Skopp G, Pötsch L, Mauden M, Richter B. Partition coefficient, blood to plasma ratio, protein binding and short-term stability of 11-nor- Δ^9 -carboxy tetrahydrocannabinol glucuronide. *Forensic Sci Int*. 2002;126(1):17-23.
 69. Skopp G, Pötsch L. Cannabinoid concentrations in spot serum samples 24–48 hours after discontinuation of cannabis smoking. *J Anal Toxicol*. 2008;32(2):160-4.
 70. Stott C, White L, Wright S, Wilbraham D, Guy G. A Phase I, open-label, randomized, crossover study in three parallel groups to evaluate the effect of Rifampicin, Ketoconazole, and Omeprazole on the pharmacokinetics of THC/CBD oromucosal spray in healthy volunteers. *Springer-Plus*. 2013;2(1):236.
 71. Takeda S, Jiang R, Aramaki H, Imoto M, Toda A, Eyanagi R, Amamoto T, Yamamoto I, Watanabe K. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and its major metabolite Δ^9 -tetrahydrocannabinol-11-oic acid as 15-lipoxygenase inhibitors. *J Pharm Sci*. 2011;100(3):1206-11.
 72. Thomas BF, Compton TR, Martin BR. Characterization of the lipophilicity of natural and synthetic analogs of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and its relationship to pharmacological potency. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990;255(2):624-30.
 73. Tius MA, Kannagara GSK, Kerr MA. Halogenated cannabinoid synthesis. *Tetrahedron*. 1993;49(16):3291-304.
 74. Vieth M, Siegel MG, Higgs RE, Watson IA, Robertson DH, Savin KA, Durst GL, Hipskind PA. Characteristic physical properties and structural fragments of marketed oral drugs. *J Med Chem*. 2004;47(1):224-32.
 75. Wall ME, Brine DR, Perez-Reyes M. Metabolism of cannabinoids in man. In: Braude MC, Szara S, editors. *The pharmacology of marijuana*. Vol 1, New York: Raven Press; 1976. pp 93-113.
 76. Wall ME, Perez-Reyes M. The metabolism of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and related cannabinoids in man. *J Clin Pharmacol*. 1981;21(8-9 Suppl):178S-89S.
 77. Wall ME, Sadler BM, Brine D, Taylor H, Perez-Reyes M. Metabolism, disposition, and kinetics of delta-9-tetrahydrocannabinol in men and women. *Clin Pharmacol Ther*. 1983;34(3):352-63.
 78. Wall ME, Taylor HL. Conjugation of acidic metabolites of delta-8 and delta-9-THC in man. In: Harvey DJ, editor. *Marijuana '84: Proceedings of the Oxford Symposium on Cannabis*. Oxford: IRL Press; 1985. pp. 69-76.
 79. Watanabe K, Matsunaga T, Yamamoto I, Funae Y, Yoshimura H. Involvement of CYP2C in the metabolism of cannabinoids by human hepatic

- microsomes from an old woman. *Biol Pharm Bull.* 1995;18(8):1138-41.
80. Watanabe K, Miyamoto M, Yamaori S, Hasegawa K, Watanabe K, Suzuki O. Human brain microsomes: their abilities to metabolize tetrahydrocannabinols and cannabinol. *Forensic Toxicol.* 2013;31(2):307-11.
81. Watanabe K, Yamaori S, Funahashi T, Kimura T, Yamamoto I. Cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of tetrahydrocannabinols and cannabinol by human hepatic microsomes. *Life Sci.* 2007;80(15):1415-9.
82. Widman M, Halldin MM, Agurell S. Metabolism of delta-1-tetrahydrocannabinol in man. In: Barnett G, Chiang CN, editors. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of psychoactive drugs.* Foster City, CA: Biomedical Publications; 1985. pp. 415-26.
83. Williams PL, Moffatt AC. Identification in human urine of Δ^9 -tetrahydrocannabinol-11-oic acid glucuronide: a tetrahydrocannabinol metabolite. *J Pharm Pharmacol.* 1980;32 (7):445-8.
84. Wilson RS, May EL. Analgesic properties of the tetrahydrocannabinols, their metabolites, and analogs. *J Med Chem.* 1975;18(7):700-3.
85. Yamamoto I, Watanabe K, Narimatsu S, Yoshimura H. Recent advances in the metabolism of cannabinoids. *Int J Biochem Cell Biol.* 1995;27(8):741-6.
86. Yamamoto I, Watanabe K, Matsunaga T, Kimura T, Funahashi T, Yoshimura H. Pharmacology and toxicology of major constituents of marijuana – On the metabolic activation of cannabinoids and its mechanism. *J Toxicol Toxin Rev.* 2003;22(4):577-89.
87. Zhu H-J, Wang J-S, Markowitz JS, Donovan JL, Gibson BB, Gefroh HA, DeVane CL. Characterization of P-glycoprotein inhibition by major cannabinoids from marijuana. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;317(2):850-7.
88. Zygmunt PM, Andersson DA, Högestätt ED. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and cannabinol activate capsaicin-sensitive sensory nerves via a CB1 and CB2 cannabinoid receptor-independent mechanism. *J Neurosci.* 2002;22 (11):4720-7.