



PIETRO ALLEGRINI<sup>A</sup>, GIOVANNI APPENDINO<sup>B</sup>

<sup>A</sup>R&D DIRECTOR, INDENA - MILANO

PIETRO.ALLEGRINI@INDENA.COM

<sup>B</sup>DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO, UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE, SEDE DI NOVARA

GIOVANNI.APPENDINO@UNIUPO.IT

## IL CBD COME INGREDIENTE ATTIVO FARMACEUTICO

*L'integrazione della produzione del farmaco antiepilettico cannabidiolo (CBD) nella filiera della canapa industriale si configura competitiva in termini economici e di impatto ambientale rispetto alla sua sintesi e alla sua estrazione da biomasse ad alto titolo.*



Foto di A. Ferrari - Next Farm

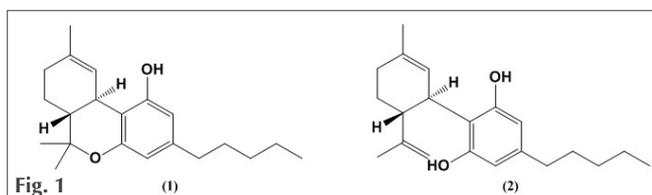
### Introduzione

I cannabinoidi sono una famiglia di composti di origine biogenetica mista risultante dalla combinazione della via "alifatica" degli isoprenoidi con quella "aromatica" degli alchilresorcinioidi [1]. Nella versione a sostituzione *n*-pentilica sono presenti principalmente nelle infiorescenze della canapa (*Cannabis sativa* L), che contiene, come composti minoritari, anche i loro omologhi inferiori *n*-propilici. In versione metilica o fenilica, i cannabinoidi si trovano anche in altre piante superiori (rododendro) ed in alcuni vegetali inferiori (epatiche) [1]. La famiglia dei cannabinoidi naturali è costituita da circa 200 composti, la maggior parte dei quali (circa il 75%) sono stati isolati dalla canapa. In questa pianta, la loro concentrazione è molto variabile e dipende da fattori genetici (chemotipo), ambientali (suolo, andamento climatico) e agronomici (condizioni di coltivazione, periodo di raccolta, tecnica di raccolta e trattamento post-raccolta della biomassa). Il trattamento post-raccolta influenza il rapporto fra i cannabinoidi nativi, che sono carbossilati, e quelli neutri risultanti dalla loro decarbossilazione termica [1].

La canapa è una pianta originaria dell'Asia Centrale, da cui si è poi diffusa con la coltivazione, già in epoca storica, in Cina, India e in Europa. Si tratta infatti di una delle prime piante coltivate dall'uomo, probabilmente per il suo uso molteplici (alimentare, tecnologico e rituale). L'uso medicinale della canapa è documentato da ritrovamenti archeologici risalenti a 5000 anni fa [2], ma, stranamente, esistono pochi riferimenti alla canapa nella letteratura antica. Le proprietà inebrianti dei semi citate da Erodoto a proposito degli Sciti sono probabilmente da riferire alle infiorescenze, che trattengono a lungo i semi al loro interno, mentre è difficile distinguere nella letteratura antica i riferimenti alla canapa da quelli al lino per via del loro comune utilizzo tecnologico ed alimentare.

### La canapa medicinale e quella ricreazionale

Gli studi moderni sulla canapa risalgono alle osservazioni del medico inglese O'Shaughnessy, che nella prima metà dell'Ottocento documentò l'utilizzo della canapa in India per il trattamento dell'epilessia dei bambini [3]. La canapa narcotica (canapa indiana) rimase nelle farmacopee europee fino agli anni Trenta del secolo scorso, con l'indicazione del trattamento di dismenorrea e cefalea, e come agente sedativo e analgesico. Il proibizionismo legato all'uso ricreazionale, lo sviluppo delle fibre sintetiche e l'introduzione di farmaci di sintesi ad un'azione più riproducibile, portarono al completo abbandono della canapa come agente medicinale. La comunità medica iniziò ad interessarsi ai cannabinoidi solo quando fu confermato che il principio narco-



tico della canapa ( $\Delta^9$ -tetraidrocannabinolo, THC (1), Fig. 1) apparteneva effettivamente a questa classe di composti [3]. Nel giro di una ventina d'anni, vennero isolati recettori specifici per il THC (CB1 e CB2) ed i suoi equivalenti biologici endogeni (endocannabinoidi). La rilevanza medicinale dei cannabinoidi è esemplificata dal fatto che sono recensiti oltre 200 studi clinici sui cannabinoidi, effettuati sul  $\Delta^9$ -tetraidrocannabinolo, sul suo analogo non-narcotico cannabidiolo (CBD (2), Fig. 1), o sulla combinazione di questi due composti come estratti standardizzati di Cannabis (nabiximolo, Sativex®). Il CBD usato in terapia (Epidiolex®) è di origine naturale ed è ottenuto per isolamento, mentre il THC farmaceutico (dronabinolo, Marinol®) è ottenuto per semi-sintesi dal CBD. Nonostante la somiglianza strutturale dei loro principi attivi, l'utilizzo clinico di questi farmaci è molto diverso. Il Sativex® è utilizzato per ridurre la spasticità associata alla sclerosi multipla, il Marinol® per il trattamento dell'anoressia da HIV e nausea e vomito da chemioterapia e l'Epidiolex® per il trattamento di epilessie infantili di origine genetica. Un quarto farmaco "cannabinoidale" è il nabilone (Cesamet), un composto sintetico ispirato al THC, che è utilizzato, in forma racemica, per il trattamento di nausea e vomito indotti da chemioterapia [4]. Mentre il profilo farmacologico del THC è riconducibile alla sua interazione con specifici end-point farmacologici, i meccanismi molecolari responsabili dell'efficacia clinica del CBD sono sconosciuti. L'epilessia è infatti una malattia multifattoriale, le cui cause sono ancora largamente sconosciute (idiopatico è il termine "medically correct" per fare riferimento a qualcosa che non capiamo) e gli antiepilettici sono leggendari per essere stati scoperti casualmente (fenotipicamente in termini "med chem correct"), in assenza di un bersaglio farmacologico specifico. Per gli altri cannabinoidi esistono solo limitate evidenze di potenziale utilizzo clinico, che verranno indubbiamente esplorate nei prossimi anni [4].

La presenza di un composto psicotropo ha ritardato gli studi sul potenziale clinico della canapa, in quanto la coltivazione delle sue diverse varietà e le successive fasi di estrazione, purificazione e formulazione dei suoi principi attivi sono soggette ad un controllo legale complesso, diverso da paese a paese, ed in rapida evoluzione [5]. Per alcuni decenni in Europa è stata addirittura proibita tout-court la coltivazione della canapa, limitazione che ancora esiste, almeno a livello di legge federale, in USA [3, 5].

La possibile liberalizzazione di preparazioni stupefacenti della canapa (spinello, hashish e le loro versioni più tecnologiche) è un classico argomento di "distrazione di massa" sui quali i media amano discutere e far discutere le persone, ignorando completamente le implicazioni tecniche e mediche associate all'argomento. Esiste infatti accordo unanime nella comunità scientifica che il consumo di Cannabis ha effetti avversi sullo sviluppo psicosociale degli adolescenti, in cui può provocare decadimento cognitivo e forme gravi di psicosi e depressione [6].

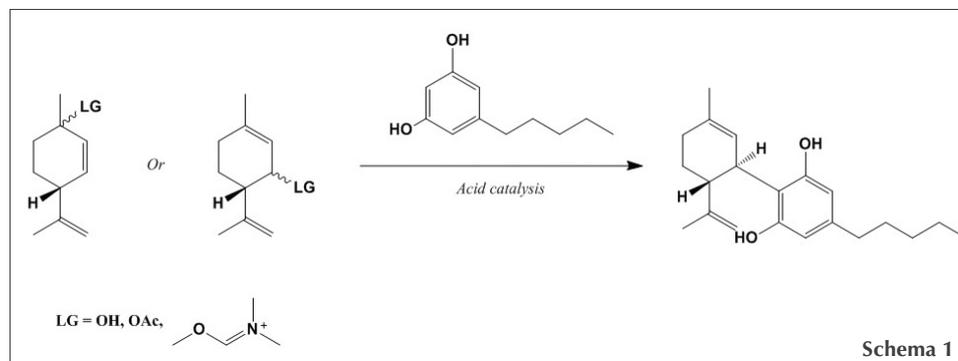
Più controverso è il giudizio sugli effetti del cannabismo negli adulti. Diversamente dal consumo cronico degli oppiacei, non sostenibile in termini di durata di vita (non si rimane eroinomani a lungo), il cannabismo non sembra modificare l'attesa di vita, anche se esistono dubbi sui suoi effetti sulla qualità della vita. La letteratura è molto controversa e gli studi epidemiologici europei e americani sono sovente discordanti, come nel caso della correlazione fra tumore testicolare e cannabismo, rilevato negli studi europei ma non in quelli americani. Queste differenze potrebbero anche essere legate al diverso modo di consumo della Cannabis, in purezza in USA e mescolata al tabacco in Europa [6]. L'aggiunta del tabacco aumenta fino a 200 °C la temperatura di combustione di uno spinello, rendendola simile a quella di una sigaretta, che è intorno ai 1000 °C. Il THC viene generato dal suo precursore carbossilato più velocemente, ma viene anche generato più catrame ed il profilo dei vapori di combustione è alterato.

Il dibattito sulla canapa ricreazionale ha influenzato in modo negativo lo studio del potenziale medicinale della pianta. Il CBD, composto non narcotico ed, anzi, anti-narcotico per il suo effetto di modulazione allosterica negativa del CB1, è inserito nella lista ame-

ricana delle sostanze controllate a più grave rischio di abuso (DEA Schedule I), insieme ad eroina e LSD [5]. Queste sostanze non possono essere importate in USA, e solo il 27 settembre di quest'anno l'Epidiolex (CBD medicinale) è stato spostato nella cosiddetta Schedule V, che contiene sostanze a limitato rischio di abuso, come la codeina utilizzata anche in sciroppi pediatrici per la tosse. Le sostanze di questo tipo possono essere importate in USA per gli usi consentiti dalla legge. A conferma della scarsa linearità che contraddistingue il perimetro legale dei cannabinoidi, il principio attivo non formulato rimane riportato nella lista delle sostanze ad elevato rischio di abuso (Schedule 1). In queste condizioni è comunque possibile ipotizzare lo sviluppo di un metodo di produzione di CBD come principio attivo farmaceutico, anche nell'ottica di commercializzarlo come formulato negli Stati Uniti, il principale mercato farmaceutico mondiale. In questa prospettiva, verranno analizzate le varie possibilità di ottenimento industriale di questo composto.

## Il CBD come ingrediente attivo farmaceutico (API)

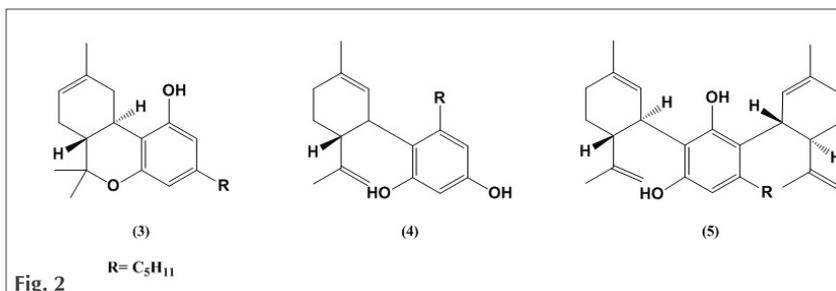
Il CBD presenta alcune caratteristiche che lo rendono un principio farmaceutico particolare. Il suo utilizzo come anti-epilettico richiede dosi molto elevate di prodotto (fino ad 1 grammo/die nei bambini) ed un consumo costante, non essendo un farmaco curativo ma solo sintomatico [7]. D'altro canto, è assimilabile per certi versi ad un farmaco salva-vita, in quanto è utilizzato per forme di epilessia gravissime per le quali non esiste un trattamento farmacologico alternativo. Con l'inibitore chinasi imatinib, il CBD è una delle pochissime *small molecules* in grado di contrastare gli effetti dannosi di un difetto genetico. Se i suoi eventuali ed inevitabili effetti collaterali vanno valutati in questo contesto d'uso, la qualità come API è critica, in quanto la potenziale impurezza (il THC) è attiva a dosi molto basse. Per inalazione, la sua dose narcotica è di circa 3-5 mg, molto più



bassa di quella dell'eroina intravenosa, che è intorno agli 80 mg. Esistono prove convincenti che *in vivo* il CBD non è convertito in THC, ma i processi di ottenimento passano attraverso reazioni potenzialmente in grado di generare questo composto, o utilizzano biomasse contenenti anche questo composto [8].

## Approccio sintetico

Il CBD può essere ottenuto per terpenilazione dell'olivetolo, la sua componente resorcinilica (Schema 1). La prima sintesi è stata sviluppata da chimici della Givaudan, in quanto i precursori terpenilici sono composti di rilevanza profumiera. Nella classica sintesi di Petrzilka, l'olivetolo è condensato con il *cis/trans*-*p*-mentadienolo in presenza di acidi di Lewis o di Brønsted. In queste condizioni, viene generato il carbocatione 3-mentadienilico, che poi alchila in senso Friedel-Crafts l'olivetolo [9]. La reazione produce una miscela di CBD, THC e vari isomeri posizionali ( $\Delta^8$ -THC (3)) e composti risultanti dall'attacco del catione terpenilico *ortho*- al residuo alchilico (abnormal cannabinoids (4)) oltre a composti di bis-alchilazione (5) (Fig. 2). Con un attento controllo delle condizioni di reazione e della natura dell'acido di Lewis, è tuttavia possibile ottenere il CBD con rese discrete, di poco inferiori al 50% molare su livello di scala laboratorio [9]. La reazione è stata studiata in dettaglio da Razdan, che





ha utilizzato come acido di Lewis una combinazione di  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  e  $\text{MgSO}_4$ , ed ottimizzato i tempi di reazione per quanto riguarda i due processi competitivi di isomerizzazione dell'abnormal-CBD in CBD (voluto) e di ciclizzazione del CBD a THC (non voluto).

L'utilizzo di altri precursori terpenilici (verbenolo, crisantenolo, carene ossido) porta invece essenzialmente all'ottenimento del THC, presumibilmente per le condizioni più spinte richieste per la generazione del carbonio responsabile della terpenilazione dell'olivetolo.

### **Estrazione da biomasse ad alto titolo**

Un altro approccio possibile alla produzione su larga scala di CBD di grado farmaceutico comporta l'utilizzo di varietà selezionate di canapa ad alto titolo nell'ingrediente attivo. A questo riguardo, bisogna notare che, secondo il regolamento europeo 639/2014/CE, sono definite varietà di canapa industriale soltanto quelle registrate nel "catalogo comune delle varietà delle specie delle piante agricole". Di conseguenza, ogni varietà diversa viene trattata come biomassa stupefacente, a prescindere dal contenuto di THC. Pertanto, o la biomassa viene registrata nel catalogo europeo, perdendone di fatto il controllo esclusivo, oppure è necessario mettere in atto tutte le azioni volte ad evitare la dispersione accidentale di questa canapa. Pertanto, la biomassa deve essere coltivata in condizioni controllate al solo fine della produzione di CBD. Questo approccio comporta investimenti significativi nella coltivazione della canapa, inclusa la moltiplicazione delle piante con metodi che ne preservino le peculiari caratteristiche (ad esempio mediante la propagazione di cloni) e la prevenzione di ibridazione accidentale mediante crossbreeding di altre varietà presenti nell'ambiente. Questo rende necessaria la coltivazione in serra od in ambienti chiusi in cui lo sviluppo della pianta viene controllato dall'illuminazione. Specifiche varietà di canapa sviluppate a questo scopo possono raggiungere concentrazioni di CBD pari al 20%. Nonostante valori di concentrazione così alti, resta il dubbio che la coltivazione di biomassa al solo scopo dell'estrazione di CBD di grado farmaceutico incida in modo troppo gravoso sul costo di produzione dell'ingrediente attivo. L'illuminazione artificiale necessaria per controllare lo sviluppo della pianta è talmente onerosa che è stato addirittura calcolato che l'1% del consumo energetico degli USA sia legato alla coltivazione indoor della canapa ricreazionale [10]. La

canapa ha il potenziale di contribuire alla risoluzione di molti problemi ambientali, in quanto la sua coltivazione richiede un uso limitato di erbicidi e fertilizzanti, ma al momento contribuisce negativamente alla nostra impronta energetica, ed è, anzi, una fonte indiretta di sbilanciamento del bilancio della  $\text{CO}_2$ .

### **Estrazione da biomasse agricole della filiera industriale**

La coltivazione della canapa è stata praticata in Italia in modo intensivo e capillare fino agli anni Cinquanta. Ancora nel 1940, la coltivazione interessava 90.000 ettari di terreno agricolo, un'estensione superiore all'attuale superficie mondiale dedicata alla coltivazione legale della pianta. La canapa italiana era considerata la migliore disponibile sul mercato, superiore a quella della Russia, l'unico paese che la precedeva in termini di volumi di produzione. Dopo decenni di declino, dovuti principalmente all'avvento delle fibre sintetiche, recentemente la canapa industriale è tornata ad essere coltivata sia per la produzione di seme ad uso alimentare (olio e farina) o animale, che per la produzione di fibra. Questa filiera è in continua crescita e costituisce una potenziale fonte di biomassa utilizzabile per la produzione di CBD farmaceutico. Le classiche varietà italiane (Carmagnola) sono dioiche, e, nell'attesa del loro miglioramento, sono state soppiantate da varietà monoiche, soprattutto di origine francese. La Francia è stato infatti l'unico stato europeo autorizzato alla coltivazione della canapa nei decenni del proibizionismo agricolo, in quanto la fibra era utilizzata per produrre carta di alto valore (la Bibbia di Gutenberg nella versione cartacea utilizzava canapa italiana di provenienza piemontese) e semi per uccelli in cattività. In questo paese è stato quindi possibile il miglioramento agronomico della pianta e lo sviluppo delle varietà monoiche. Un lavoro simile è stato fatto in Finlandia per la produzione di varietà a taglia ridotta utili per la produzione di seme, come la varietà Finola.

La fibra di canapa è molto versatile dal punto di vista dell'utilizzo tecnologico, con applicazioni importanti nell'edilizia (isolamento termico e resistenza sismica: le case costruite con mattoni contenenti fibra di canapa resistettero al terremoto che colpì nel 2015 la Romagna) e nel tessile. Tuttavia, la coltivazione ancora limitata rende la fibra costosa rispetto alle altre

alternative. L'espansione della coltivazione ridurrà significativamente il suo costo, ma un contributo importante potrebbe anche essere fornito dal recupero degli scarti di pulitura della pianta per l'isolamento del CBD, che vi è contenuto in concentrazioni importanti anche superiori al 2%. Il CBD è attualmente utilizzato per una nicchia farmacologica, in quanto è registrato per il trattamento di forme di epilessia che non rispondono ad altri farmaci. Tuttavia, secondo quanto riportato nelle comunicazioni agli investitori di GW Pharmaceuticals [11], l'azienda farmaceutica che ha registrato Epidiolex, oltre 50.000 pazienti affetti dalla sindrome di Dravet e di Lennox-Gastaut potrebbero avere un beneficio dalla cura. Dato che la terapia richiede circa 200-400 grammi all'anno di principio attivo, si può facilmente calcolare una richiesta annuale di CBD farmaceutico di 10-20 tonnellate solo per l'indicazione terapeutica attuale. Il CBD è anche utilizzabile in cosmetica per le sue proprietà anti-infiammatorie e possiede proprietà anti-acne importanti, legate alla sua triplice azione anti-infiammatoria, anti-batterica e sebo-regolatrice. Gli utilizzi nel campo cosmetico-topico e gli studi clinici in corso su altre malattie neurologiche gravi e debilitanti (morbo di Parkinson, morbo di Alzheimer) rendono plausibile un aumento importante dei volumi nei prossimi anni.

## Conclusioni

La produzione di CBD ad uso farmaceutico può essere realizzata con approcci diversi, che vedono il consueto confronto tra l'estrazione e la sintesi totale. Sebbene il prodotto abbia una struttura relativamente semplice rispetto ad altri derivati di origine vegetale e gli schemi preparativi richiedano un numero molto limitato di passaggi, la sintesi totale ha rese piuttosto modeste a causa della formazione di notevoli quantità di sottoprodotti strutturalmente simili all'ingrediente attivo e quindi difficilmente eliminabili. Nell'ambito dell'estrazione del prodotto da fonti vegetali, il dilemma riguarda la scelta del materiale vegetale di partenza: una canapa ad alto costo ed alto titolo in CBD coltivata a questo solo scopo rispetto a frazioni di risulta dalla produzione di seme ad uso alimentare. L'innesto della produzione di CBD di grado farmaceutico può beneficiare e, allo stesso tempo, contribuire allo sviluppo della nascente filiera di coltivazione della canapa industriale; in quest'ottica si configura il

progetto comunitario GRACE, coordinato dall'Università di Hohenheim (Germania), al quale partecipano come partner italiani Indena, l'Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza ed il Consorzio di Bonifica di Piacenza [12]. Questo approccio sembra avere un potenziale economico superiore alle altre alternative, oltre ad essere molto vicino al concetto di filiera di produzione integrata e "circolare" che ha caratteristiche di sostenibilità ambientale decisamente superiori.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] L. Hanus *et al.*, *Nat. Prod. Rep.*, 2016, **33**, 1357.
- [2] Marijuana and Cannabinoids, M.A. Elsohly (Ed.), Humana Press, Totowa NJ, 2006; T. Long, *Vegetation History and Archaeobotany*, 2017, **26**(2), 245.
- [3] E. Russo, *Chem. Biodiv.*, 2007, **4**, 1609.
- [4] E. Di Marzo, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2008, **7**, 438.
- [5] J. Corroon, R. Kight, *Cannabis Cannab. Res.*, 2018, **3**, DOI: [10.1089/can.2018.0030](https://doi.org/10.1089/can.2018.0030)
- [6] W. Hall, L. Degenhardt, *Lancet*, 2009, 374; J. Renard *et al.*, *Frontiers in Neuroscience*, 2014, **8**, 1; N.D. Volkow *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 2014, **370**, 2219; W. Hall, L. Degenhardt, *Drug Test. Analysis*, 2014, **6**, 39.
- [7] E. Stocking *et al.*, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 2018, **89**, 741.
- [8] F. Grotenhermen *et al.*, *Cannabis Cannabinoid Res.*, 2017, **2**, DOI: [10.1089/can.2016.0036](https://doi.org/10.1089/can.2016.0036).
- [9] R.K. Razdan, in *Total Synthesis of Natural Products*, 2007, Vol. 4, 185-262.
- [10] G. Magagnini *et al.*, *Med. Cannabis Cannabinoids*, 2018, **1**, 19.
- [11] GW Pharmaceuticals plc, Results of Annual Meeting of Shareholders, March 14, 2017.
- [12] Grant Agreement N° 745012; [www.grace-bbi.eu/project](http://www.grace-bbi.eu/project) (2016).

### CBD as Active Pharmaceutical Ingredient

By integrating the production of the antiepileptic drug cannabidiol (CBD) into the industrial supply chain of hemp, a process more sustainable and environmentally friendly compared to its synthesis and extraction from high content hemp varieties can be developed.