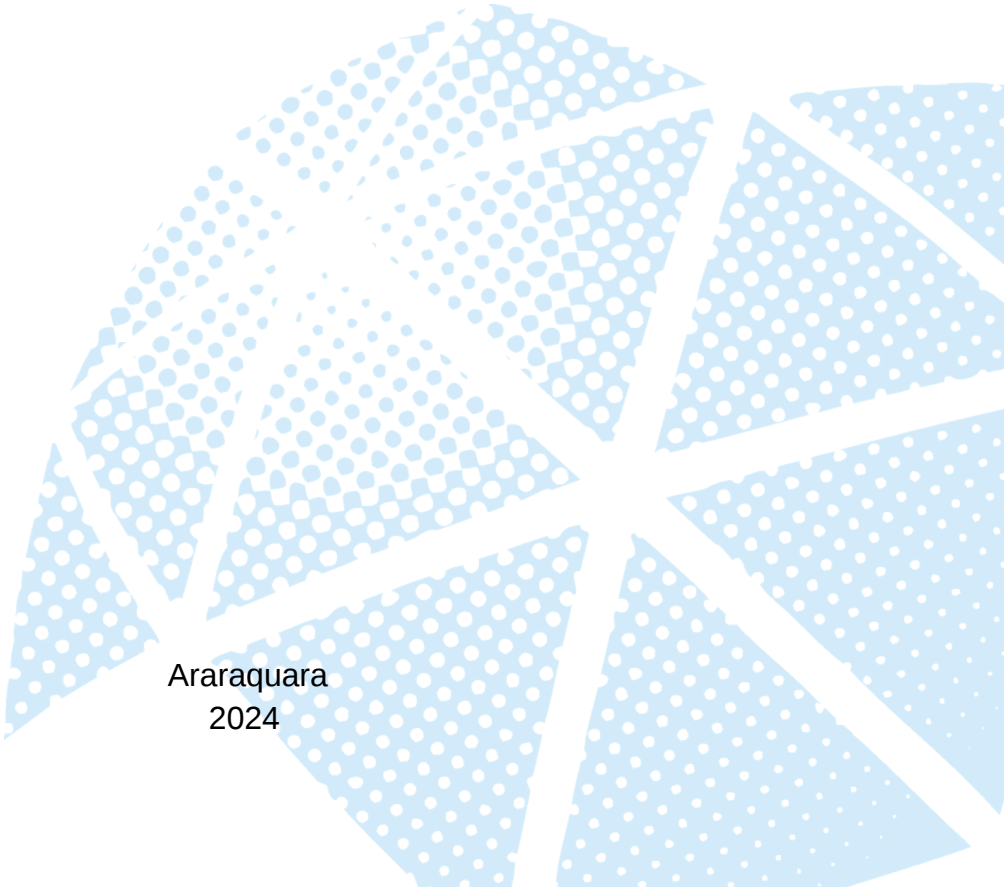


**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - CÂMPUS DE
ARARAQUARA**

DESIRRE VENKLI

**ESTUDO SISTEMÁTICO DA *CANNABIS SATIVA L*: FITOQUÍMICA,
EFEITOS BIOLÓGICOS E PERFIL DE TERPENOS.**

Araraquara
2024



DESIRRE VENKLI

**ESTUDO SISTEMÁTICO DA *CANNABIS SATIVA L*: FITOQUÍMICA, EFEITOS
BIOLÓGICOS E PERFIL DE TERPENOS.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, para obtenção do título de Mestre(a) em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

Área de Concentração: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.

Orientador(a): Prof. Dr. Lucinéia dos Santos

Araraquara
2024

Venkli, Desirre.
V459d Estudo sistemático da *Cannabis sativa* L: fitoquímica, efeitos biológicos e perfil de terpenos / Desirre Venkli. – Araraquara, 2024.
91 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.

Orientadora: Lucinéia dos Santos.

1. *Cannabis sativa*. 2. Canabidiol. 3. Efeito comitiva. 4. Sistema endocanabinoide. 5. Fitocanabinoides. 6. Extração de fitocanabinoides. I. Santos, Lucinéia dos, orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030170P0

Esta ficha não pode ser modificada

DESIRRE VENKLI

ESTUDO SISTEMÁTICO DA *CANNABIS SATIVA L*: FITOQUÍMICA, EFEITOS BIOLÓGICOS E PERFIL DE TERPENOS.

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, para obtenção do título de Mestre(a) em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

Área de Concentração:

Data da defesa: 19/09/2024

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Lucinéia dos Santos
UNESP – Faculdade de Ciências e Letras - Campus de Assis

Prof. Dr. Valdecir Faria Ximenes
Faculdade de Ciências – Departamento de Química Bauru

Profa. Dra. Cássia Roberta Malacrida Mayer
Faculdade de Ciências e Letras Assis

Dedico este trabalho aos meus pais, Ana Cláudia e Celso, por toda dedicação durante a minha vida escolar fazendo com que eu compreendesse a importância do conhecimento e pelo apoio incondicional em todas as decisões tomadas até hoje.

Ao meu esposo, Luis Gustavo, pela compreensão, apoio e amor durante essa jornada que demandou muita dedicação.

Aos queridos amigos Ana Carolina, Thaís, Maicon, Keila e Gabriel que me inspiram pessoal e profissionalmente.

Às colegas de trabalho Ana Beatriz e Débora pelo incentivo e apoio.

À minha orientadora Lucineia pelo auxílio no meu desenvolvimento científico.

Acho importantes os momentos de esperança, de que as coisas podem mudar porque tem algo no sentir que as coisas são possíveis que causa revoluções.

Autor desconhecido

RESUMO

A Cannabis medicinal é utilizada desde a época medieval em diferentes regiões do mundo, como China, Egito e Grécia. Pedânio Dioscórides, médico greco-romano, considerado o fundador da farmacologia, descreveu na sua obra “De Matéria Médica” que a Cannabis se mostrava como um tratamento eficaz para dores articulares e inflamações. Atualmente, mesmo com o aumento crescente do uso de medicamentos prescritos a base de Cannabis, em especial da *Cannabis sativa*, para o tratamento de várias condições médicas, ainda não estão bem estabelecidos os métodos mais adequados de plantio, que influenciam a composição dos fitocanabinoides, de armazenamento, de obtenção dos fitocanabinoides e terpenos e da quantificação dos mesmos. Diante desta situação, o objetivo deste trabalho foi o de selecionar a partir de uma revisão bibliográfica, quais métodos são mais adequados para obtenção de preservação de fitocanabinoides e terpenos presentes na *Cannabis sativa*, além de trazer questões relacionadas ao controle de qualidade necessário e viabilidade econômica do mercado de produtos à base de Cannabis. A partir dessa revisão observou-se que a extração por fluido supercrítico é uma estratégia promissora para melhorar a qualidade final de produtos farmacêuticos contendo a *Cannabis sativa*, além de ser uma tecnologia que pode ser utilizada em larga escala. A maceração dinâmica também demonstra ser uma técnica adequada para a extração de fitocanabinoides, isto porque, quando realizada em temperatura ambiente é um excelente método para extrair fitocanabinoides ácidos pela não ocorrência da descarboxilação. Para a quantificação dos fitocanabinoides a cromatografia de alta eficiência, HPLC, é a melhor opção para quantificar de forma confiável os fitocanabinoides. Contaminação e rotulagem incorreta da composição dos fitocanabinoides mostram a necessidade de que sejam estabelecidos os padrões de controle de qualidade dos produtos de forma rigorosa e que contemple atributos de qualidade que assegurem segurança e eficácia constatada pela autoridade sanitária competente, no caso do Brasil, a ANVISA.

Palavras – chave: *Cannabis sativa*; canabidiol; efeito comitiva; sistema endocanabinóide; fitocanabinoides; extração de fitocanabinoides.

ABSTRACT

The medicinal Cannabis has been used since the medieval times in different regions, such as China, Egypt and Greece. Pedânio Dioscórides, greek-roman doctor, considered the founder of pharmacology, described in his book "Of medical supplies" that Cannabis appears to be an effective treatment for joint pain and inflammation. At the moment, even with the increase the use of prescription Cannabis based medicines, for the treatment of many medical conditions, they are still not well established the methods more suitable planting, that influence the composition of phytocannabinoids that influence the composition of phytocannabinoids and terpenes and their quantifications. In light of this situation, the objective of this dissertation was to select from based on a bibliographical review which methods are most suitable to obtain the preservation of phytocannabinoids and terpenes present in *Cannabis sativa*. In addition to raising issues related to the necessary quality control and economic viability of the Cannabis-based products market. From this review it was observed that the extraction by supercritical fluid is a promising strategy improve to the products based on *Cannabis sativa*, besides being a suitable technique for the extraction of phytocannabinoids, this is because, when made at ambient temperature is an excellent method to extract acid phytocannabinoids due to the non-occurrence of decarboxylation. For the quantification of phytocannabinoids the high-performance chromatography, HPLC, is the best option to quantify in a reliable way the phytocannabinoids. Contamination and incorrect labeling of the composition of phytocannabinoids show the need for rigorous product quality control standards to be established and to include quality attributes that ensure safety and efficacy as verified by the competent health authority, in the case of Brazil, ANVISA.

Keywords: *Cannabis sativa*; cannabidiol; entourage effect; endocannabinoid system; phytocannabinoids; phytocannabinoid extraction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Taxonomia vernacular da Cannabis	17
Figura 2. Estrutura carbocíclica dos fitocanabionoides com 21 ou 22 carbonos e anéis ciclohexeno (verde), tetrahidropirano (preto) e benzeno (vermelho)	19
Figura 3. Via biossintética de origem dos fitocanabinoides	20
Figura 4. Estrutura química do canabinol	21
Figura 5. Estrutura tridimensional do Δ^9 -THC	22
Figura 6. Relação estrutura-atividade da molécula Δ^9 -TH	23
Figura 7. Estrutura química dos principais terpenos encontrados na <i>Cannabis sativa</i>	26
Figura 8. Representação sistema primário de transdução de sinal através da proteína G	27
Figura 9. Representação da sinalização sináptica retrógrada mediada por endocanabinóides	31
Figura 10. Estrutura química do CBD	32
Figura 11. Principais alegações terapêuticas de <i>C. sativa</i> e seus derivados relatadas em literatura	34
Figura 12. Extrator Soxhlet convencional	46
Figura 13. Amostras do pó resultante da extração “kief”	48
Figura 14. Destilação por micro-ondas em conjunto com destilação a pressão atmosférica	49
Figura 15. Representação da extração de ultrassom focalizada	50
Figura 16. Representação da extração por fluido supercrítico	51
Figura 17. Concentração de Δ^9 -THC e CBD dosado e esperado em extratos oleosos de <i>Cannabis sativa</i> produzidos por associações brasileiras e por pacientes	55
Figura 18. Eluição em cromatografia clássica em camada fina (TLC) com hexano-éter dietílico (80:20, v/v)	59
Figura 19. Eluição no sistema de alta performance em camada delgada (AMD) com	60

o gradiente de eluição acetona (100), éter diisopropílico (100), hexano (100), hexano (100) e hexano (100) e pulverização do reagente Fast Blue Salt Reagent

Figura 20. Eluição em OPLC (optimum performance laminar chromatography) com os efluentes isoctano e isoctano-éter dietílico (90:10, v/v)	60
Figura 21. Efeito da temperatura de entrada no CBD, taxa de degradação e concentração de CBD, $\Delta 9$ -THC, $\Delta 8$ -THC e CBN expressa em μM	63
Figura 22. Comparação do rendimento de extração (mg/g) das moléculas do cânhamo através de diferentes técnicas de extração. DM (maceração dinâmica), UEA (extração assistida por ultrassom), MAE (extração assistida por micro-ondas), SFE (extração com fluido supercrítico)	65
Figura 23. Folha da Cannabis	70
Figura 24. Inflorescência da Cannabis	70
Figura 25. Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó de <i>Cannabis sativa</i>	73
Figura 26. Tamanho do mercado de Cannabis medicinal no Brasil	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização por fenótipos, anos 1971 e 1973	24
Tabela 2. Caracterização por tipo de planta, concentração de fitocanabinoides e localidade de crescimento	24
Tabela 3. Métodos analíticos para quantificação de fitocanabinoides pelo método cromatografia em camada delgada	61

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Representação do processo de patente do método de extração por fluido supercrítico	53
Esquema 2. Representação do processo de extração por fluido supercrítico do óleo das sementes da Cannabis com finalidade nutricional	53
Esquema 3. Representação da extração de fitocanabinoides em extração caseira	56
Esquema 4. Representação do processo oficial de quantificação para determinar o teor de Δ^9 -THC por cromatografia gasosa de acordo com a Comissão Europeia	62

LISTA DE ABREVIATURAS

ONU	Organização das Nações Unidas
FDA	Federal Drug Administration
CBD	Canabidiol
Δ^9 -THC	Δ^9 -tetrahydrocannabinol
Δ^9 -THCV	Δ^9 -tetrahydrocannabivarinol
CBDV	Canabidivarinol
CBNV	Canabivarinol
CBN	Canabinol
CBD	Canabidiol
GPP	Geranyl difosfato
PKS	Enzima policetídeo sintase
OAC	Ácido olivetólico
CBC	Canabicromeno
Δ^8 -THC	(-) - Δ^8 -trans-tetrahydrocannabinol
CBG	Canabigerol
CBE	Canabielsoína
CBL	Canabicitrolol
CBT	Canabitriol
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance
AEA	Anandamida
2-AG	2- araquidonoilglicerol
MAP	Mitógeno
IP3	Inositol-3-fosfato
GABA	Ácido γ -aminobutírico
NArPE	N-araquidonil-fosfatidil-etanolamina
NAPE-PLD	N-araquidonil-fosfatidil-etanolamina

DAG	Diacilglicerol
MAE	Extração assistida por micro-ondas
SFE	Extração por fluido supercrítico
CCD	Cromatografia em camada delgada
OPLC	Optimum performance laminar chromatography
MS	Espectrometria de massa (MS)
FID	Deteção por ionização de chama
AMD	Sistema de alta performance em CCD
FUSE	Extração de ultrassom focalizada
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1. Aspectos gerais da Cannabis.....	16
3.2 Perfil fitoquímico da Cannabis.....	18
3.3 Fitocanabinoides e seu receptores.....	266
3.4 Aspectos farmacológicos dos fitocanabinoides.....	29
3.5 Interações farmacológicas dos fitocanabinoides.....	35
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5. 1 Condições de plantio da <i>Cannabis sativa</i> para obtenção de maiores concentrações de metabólitos secundários.....	38
5. 2 Condições de armazenamento da <i>Cannabis sativa</i> para obtenção de maiores concentrações de metabólitos secundários.....	40
5.3 O método mais adequado de extração dos fitocanabinoides e terpenos da <i>Cannabis sativa</i>	42
5.4 Métodos de quantificação dos fitocanabinoides e terpenos da <i>Cannabis sativa</i>	57
5.5 Controle de qualidade	66
5.6 Viabilidade econômica.....	74
6 CONCLUSÕES.....	79
REFERÊNCIAS.....	83

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a literatura, o uso medicinal da Cannabis ocorria já na época medieval em regiões que englobam a China, Egito e Grécia. Porém, a China é o país com a maior quantidade de registros sobre a Cannabis, bem como os mais antigos, presentes na Farmacopeia “Shen Nung Pen Ts'ao Ching”, escrita no período neolítico. No Antigo Egito, o papiro de Ebers, escrito e datado aproximadamente em 1550 a.C., a Cannabis era considerada uma planta sagrada, utilizada em vários rituais religiosos, por muitas religiões, como o da seita hindu, ao longo dos séculos^{1;2;3;4}.

Em 50 d.C., o médico Pedânio Dioscórides, greco-romano, considerado o fundador da farmacologia, publicou em sua obra “De Matéria Médica” as principais informações sobre drogas medicinais, sendo estas utilizadas desde o início do século I até o século XVIII. Dentre as mais de mil substâncias vegetais descritas nesta obra e distribuídas em grupos terapêuticos, a maconha medicinal, a Cannabis, se mostrava como um tratamento eficaz para dores articulares e inflamações¹.

Os ingleses iniciaram a produção da cultura em solo norte-americano no começo do século XV e os norte-americanos mantiveram o cultivo de forma legal e com o apoio do Estado até o final da segunda guerra mundial, em 1945. Assim como a Inglaterra, Portugal introduziu a cultura em suas colônias, em especial para atender as necessidades da marinha³. A espécie *Cannabis sativa*, chegou no Brasil nas caravelas portuguesas em 1500, e anos depois, as sementes foram trazidas pelos escravos africanos no período colonial^{5;1;6}.

A Cannabis pertence à família Cannabaceae e possui 3 subespécies principais: *Cannabis sativa* - nomenclatura proposta pelo botânico sueco Carolus Linnaeus em 1753, *Cannabis indica* – identificada pelo naturalista francês Jean-Baptiste Lamarck em 1785 – e *Cannabis ruderalis* – classificada em 1924 pelo botânico russo Dmitri Erástovich Janischewsky. No Brasil, a *Cannabis sativa*, de origem asiática, é popularmente conhecida como maconha (termo que é um anagrama da palavra cânhamo)⁷.

Em 1930, as propriedades farmacológicas da *Cannabis sativa* foram descritas nos compêndios médicos e catálogos farmacêuticos brasileiro, sendo utilizada legalmente até sua proibição^{8;9}. A primeira menção histórica sobre a proibição da

Cannabis ocorreu em 1764 quando o imperador francês Napoleão Bonaparte invadiu o Egito. Como citado acima, essa civilização já fazia uso da Cannabis para vários fins e os soldados de Napoleão tiveram contato com a planta. Mas, observando que o consumo de Cannabis diminuía a agressividade de seus homens, Napoleão proibiu o seu uso alegando efeito exatamente oposto ao observado, ou seja, afirmou que a planta aumentava a agressividade e transformava o usuário em um selvagem³.

Também, por meio de jornais e revistas, uma forte propaganda associando a Cannabis a crimes, desemprego e preconceito racial ocorreu entre os anos de 1916 a 1937. Em 1936, nos EUA, o filme *Reefer Madness*, de propaganda estadunidense e contra o uso da Cannabis, foi montado para exibição nas escolas, relacionando esta planta com loucura e violência. Como resultado, por meio de convenções internacionais, a Cannabis foi criminalizada e proibida nos EUA, e todo legado histórico da planta foi apagado. Assim, na década de 30 ficou estabelecida a política de marginalização do uso da Cannabis e a “guerra contra esta droga”. Esta política foi implementada com facilidade em muitos países, se adequando inclusive ao modelo repressivo brasileiro¹⁰.

Com tantas leis dificultando ou proibindo, até mesmo o uso medicinal, sob pena de prisão, inclusive para médicos, a utilização desta planta foi diminuindo na Europa e nas Américas e, em 1942, a Cannabis foi excluída da farmacopeia norte-americana. Com o passar dos anos o uso medicinal da planta decaiu devido escassez de resultados robustos e associado ao resultado da Convenção Única de Entorpecentes realizada pela ONU em 1961, em que a Cannabis foi comparada à heroína e foi considerada uma droga perigosa, com potencial de gerar riscos à saúde da população. Além disso, a Cannabis foi classificada pela FDA (Food and Drug Administration) e Drug Enforcement Administration como uma planta sem utilidade terapêutica e com potencial de causar dependência. Outro fator complementar para um olhar preconceituoso sobre a Cannabis foi a implementação no Brasil da Lei nº 6.368 de 1976 que passou a prever pena de prisão para usuários com posse de pequenas quantidades da planta¹¹.

Após vários desdobramentos da legislação referente à Cannabis, atualmente os produtos à base desta planta podem ser prescritos quando as opções de tratamento já foram utilizadas, mas o plantio para uso próprio continua sendo proibido, passível de pena de prisão, salvo por decisão favorável da justiça ao paciente que iniciou processo judicial¹².

Com o aumento crescente na frequência de medicamentos prescritos a base de Cannabis para o tratamento de várias condições médicas, aumentou a necessidade por estudos etnofarmacológicos desta planta que evidenciem todos os processos relacionados a produção desses medicamentos, além da definição das vias de administração, a identificação de sua composição, seus efeitos terapêuticos, as possíveis interações medicamentosas, os efeitos colaterais, contraindicações de uso ou exposição não intencional em populações como idosos e jovens⁴.

Na literatura está descrito que a Cannabis possui em sua composição fitoquímica mais de 80 fitocanabinoides. Os efeitos farmacológicos e terapêuticos da Cannabis têm sido atribuídos ao fitocanabinoide Canabidiol (CBD). Já, o efeito psicoativo ao fitocanabinoide Δ 9-Tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC)⁵.

Mas, atualmente, a importância dos terpenos, também presente na composição fitoquímica da Cannabis, e em associação aos fitocanabinoides, tem sido evidenciada. O efeito dessa interação tem sido denominado de comitiva ou entourage. Koltai e Namdarum, 2020, relataram que a associação de fitocanabinoides com os terpenos, em concentrações definidas, promovem maior atividade farmacológica. Desta forma, essa complexa interação entre os fitocanabinoides e terpenos parece estar respondendo pela diversidade dos efeitos terapêuticos e adversos promovidos pela Cannabis¹³.

2 OBJETIVOS

Com o propósito de potencializar os efeitos farmacológicos e reduzir os efeitos adversos do óleo da *Cannabis sativa*, forma farmacêutica mais usual para o uso terapêutico desta planta, este projeto, por meio de uma revisão bibliográfica, teve por objetivo estabelecer os métodos mais adequados de plantio, armazenamento, extração e quantificação dos fitocanabinoides e terpenos desta planta.

Objetivos específicos

Por meio de uma revisão bibliográfica definir:

- 1- Condições adequadas de plantio da *Cannabis sativa* para obtenção de maiores concentrações de metabólitos secundários;
- 2- Condições adequadas de armazenamento da *Cannabis sativa* para obtenção de maiores concentrações de metabólitos secundários;
- 3- O método mais adequado de extração dos fitocanabinoides e terpenos da *Cannabis sativa*;
- 4- O método mais adequado para quantificação dos fitocanabinoides e terpenos da *Cannabis sativa*.

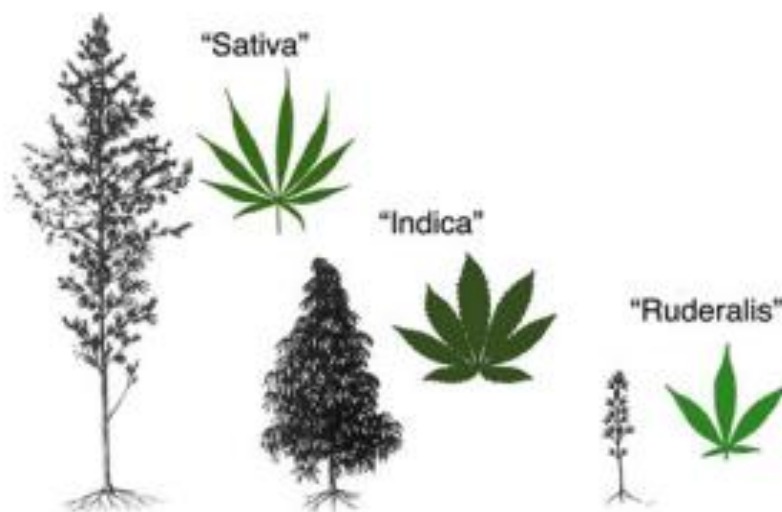
3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Aspectos gerais da Cannabis

A Cannabis é uma planta dioica (sexo feminino e masculino não estão presentes na mesma planta), assim a fecundação acontece por polinização pelo ar ou por vetores vivos, como os insetos. O seu cultivo pode ser realizado em ambiente aberto ou interno, sob condições controladas, podendo gerar até quatro colheitas por ano. A Cannabis é uma planta de ocorrência anual com porte médio a alto e dependendo das influências ambientais que sofre, cresce a uma altura de até 5 metros em uma estação de crescimento de 4 a 6 meses¹⁴.

Como já citado anteriormente, a *Cannabis sativa* pertence à família Cannabaceae. Possui mais de cem variedades já descritas na literatura, sendo estas divididas em três subespécies: *Cannabis sativa* Lineu, *Cannabis indica* Lamarck e *Cannabis ruderalis*. Essa classificação é decorrente de sua localização geográfica de origem, mas alguns estudiosos a utilizam para associar com um maior ou menor teor de substâncias psicoativas. A subespécie *Cannabis sativa* Lineu é composta por folhas mais finas e menores do que as folhas da *Cannabis indica* Lamarck, que possui coloração verde escuro podendo ter tonalidades na cor roxa. A distribuição natural da variedade *indica* é Afeganistão, Paquistão, Índia e países ao redor, enquanto a *sativa* é encontrada em diversos países com climas diversificados. Na Figura 1 é possível visualizar a diferença entre as folhas em relação à altura e formato das folhas^{15;16;17;18;19}.

Figura 1. Taxonomia vernacular da Cannabis.



Fonte: MCPARTLAND, 2018.

De acordo com essa diferenciação a espécie *sativa* produz uma quantidade maior de $\Delta 9$ -THC e possui um perfil de terpenos herbal, enquanto a *indica* tem uma proporção maior de CBD, chegando a 1:1 ($\Delta 9$ -THC:CBD). Porém, devido à alta adaptabilidade da planta, plasticidade genética, variações morfológicas e manipulação humana, as gerações de Cannabis, com o passar do tempo podem apresentar um padrão inicial modificado^{15;16;17;18;19}.

A planta macho da Cannabis produz os “estames”, órgãos sexuais masculinos, repletos de pólen. A planta fêmea apresenta floração robusta rica em “pistilos”, órgãos sexuais femininos e as inflorescências ficam cobertas por glândulas chamadas de tricomas com elevada concentração de fitocanabinoides. Conforme as flores amadurecem, a quantidade de tricomas aumenta e tornam-se translúcidas, armazenando grande quantidade desses compostos. Assim, a preferência para a produção de fitocanabinoides é pelo cultivo da planta feminina pois ela produz grandes quantidades dessas moléculas e geram sementes. Desta forma, durante o processo de plantio as de sexo masculino são retiradas para que não ocorra polinização cruzada, que afeta a qualidade dos fitocanabinoides^{20;21}.

A resina é formada desde o surgimento das primeiras flores até a maturidade das sementes, e a produção pode estar relacionada a uma reação adaptativa da planta para proteger a semente durante a maturação do calor e da baixa umidade do ar¹⁸.

Os fitocanabinoides são encontrados em baixa quantidade em outras partes da planta, como por exemplo nas sementes, raízes e pólen. A semente apresenta apenas vestígios de Δ^9 -THC e CBD, porém concentrações mais elevadas de Δ^9 -THC podem ser detectadas na superfície externa do tegumento da semente, provavelmente devido à contaminação com folhas ou flores de plantas²².

Os fitocanabinoides nas folhas diminuem com a idade e ao longo da extensão do eixo do caule, com a maior quantidade nas folhas dos nós superiores. Estudos sobre o real conteúdo no caule é escasso. Análises realizadas com o pó da parte superior do caule do cânhamo tipo fibra demonstraram baixo teor de Δ^9 -THC e CBD, 0,04 e 1,3%, respectivamente²².

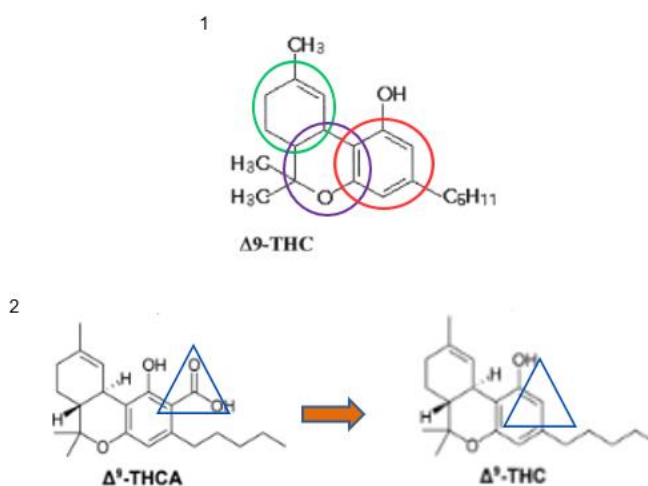
3.2 Perfil fitoquímico da Cannabis

A complexidade da composição fitoquímica da Cannabis é evidente. Por exemplo, na subespécie *Cannabis Sativa* foram identificados mais de 750 componentes químicos, tais como: monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, esteroides, compostos nitrogenados e em destaque, os fitocanabinoides²⁰.

Os fitocanabinoides são moléculas que possuem uma estrutura carbocíclica com 21 ou 22 carbonos quando na forma descarboxilada. Geralmente são formados por três anéis, ciclohexeno, tetrahidropirano e benzeno^{8;22}. Assim, de modo geral, a estrutura química dos fitocanabinoides é semelhante, mas alguns diferem com grupamentos químicos na cadeia lateral como o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THCV), o cannabidivanol (CBDV) e o cannabivanol (CBNV), que possuem o grupamento propil no lugar do pentil, grupamento presente nos fitocanabinoides Δ^9 -THC, CBD e cannabinol (CBN). Uma alteração química importante que ocorre nos fitocanabinoides é a descarboxilação devido à instabilidade do grupo carboxila na posição 3 ou 5 do anel benzênico, transformando os fitocanabinoides ácidos em neutros¹⁸. Essa alteração química é um passo importante e essencial para a produção de óleo, pois os fitocanabinoides neutros são sintetizados e são na maioria os responsáveis pelos efeitos farmacológicos da Cannabis. A perda do grupo carboxila na forma de dióxido de carbono pode ocorrer através da temperatura ou de forma natural pelo envelhecimento da planta e armazenamento prolongado. A descarboxilação em forno a 145 °C por 30 minutos é suficiente para descarboxilar completamente as moléculas

Δ^9 -THCA, CBGA e CBCA e diminuir consideravelmente as concentrações dos monoterpenos mirceno, terpineol e terpinoleno²³. A Figura 2 apresenta a estrutura dos fitocanabinoides e a reação de descarboxilação.

Figura 2. Estrutura carbocíclica dos fitocanabinoides com 21 ou 22 carbonos e anéis ciclohexeno (verde), tetrahidropirano (preto) e benzeno (vermelho)¹; instabilidade da carboxila do anel benzênico (descarboxilação)².



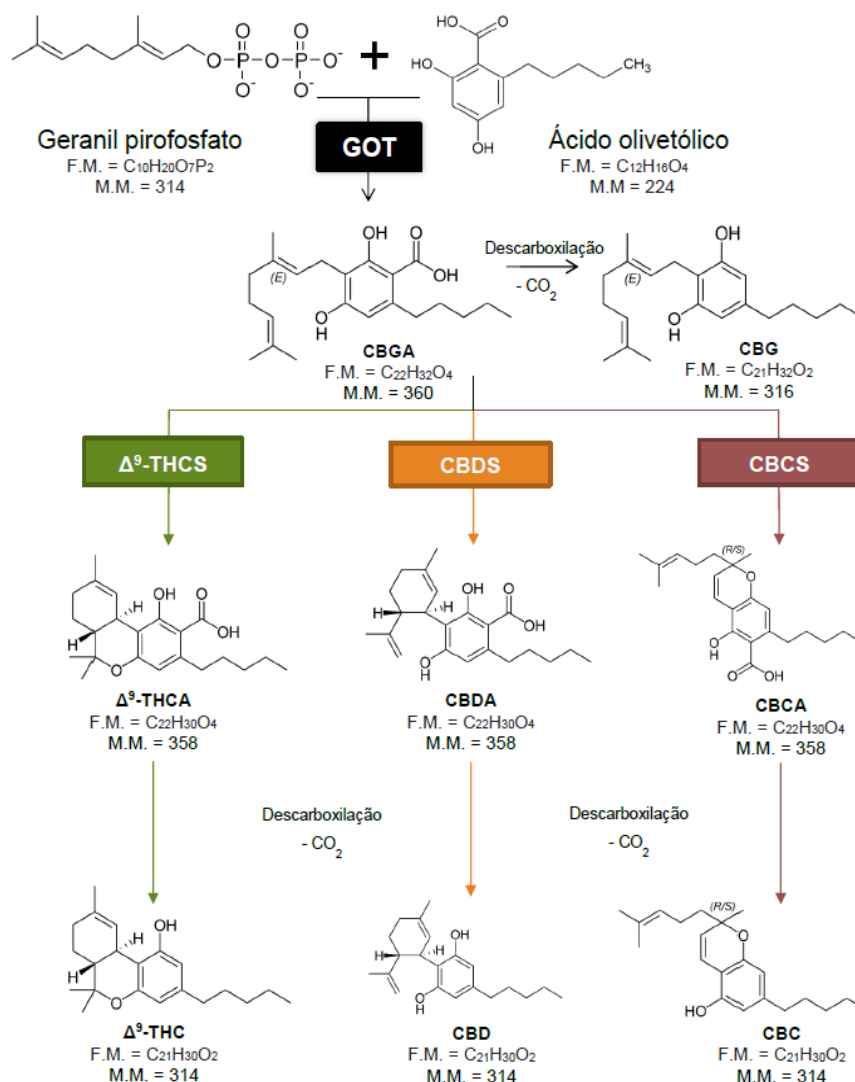
Fonte: GARCIA, 2000; BORILL, 2016.

Assim, diferentes tipos de formas de fitocanabinoides são encontrados na planta *in natura* ou após o processo de descarboxilação. Em 1984, Turner e Mahlberg demonstraram essa ocorrência através de experimentos por Cromatografia Gás-Líquido e Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), com amostras que foram secas durante 24 horas em uma temperatura de 37 °C ou 60 °C. As amostras secas a 60 °C apresentaram concentrações de fitocanabinoides neutros, enquanto as formas ácidas foram identificadas nas amostras secas a 37 °C²¹.

Os precursores dos fitocanabinoides originam-se através de duas vias biossintéticas (Figura 3), a via que dá origem ao ácido olivetólico (OLA) e a via que dá origem ao geranil difosfato (GPP). O ácido olivetólico é formado a partir de hexanoil-CoA com três moléculas de malonil-CoA. Esta reação é catalisada por uma enzima poliketídeo sintase (PKS) e uma ciclase do ácido olivetólico (OAC). A via do geranil difosfato ocorre devido a molécula olivetolato geraniltransferase catalisar a alquilação de OLA com GPP levando à formação de ácido canabigerólico (CBGA), o precursor

de vários fitocanabinoides. A partir da formação do CBGA, Δ^9 -THCA sintase converte CBGA em Δ^9 -THCA, CBDA sintase converte CBGA em CBD, CBCA sintase converte CBGA em CBCA²².

Figura 3. Via biossintética de origem dos fitocanabinoides.



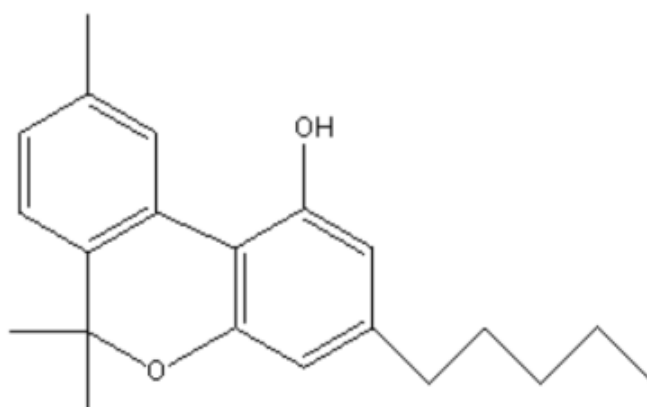
Fonte: BORILL, 2016.

De acordo com a estrutura química os fitocanabinoides se dividem em 10 subclasses, sendo a 11ª considerada um grupo variado. Os fitocanabinoides CBG, Δ^9 -THC, CBD e canabicromeno (CBC) são considerados os principais de origem natural já que os demais são o resultado da decomposição da planta ou como resultado da exposição à luz, temperatura ou oxigênio durante o armazenamento²⁴. As 10 subclasses citadas são: (-) Δ^9 -trans-tetrahydrocanabinol (Δ^9 -THC), (-) Δ^8 -trans-tetrahydrocanabinol (Δ^8 -THC), canabigerol (CBG), canabicromeno (CBC), canabidiol

(CBD), canabinodiol (CBND), canabielsoína (CBE), canabicitolol (CBL), canabinol (CBN), canabitriol (CBT)²⁵.

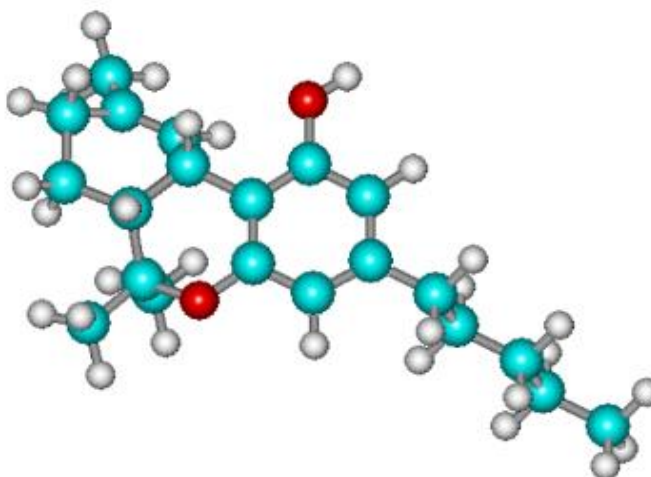
A Figura 4 apresenta a estrutura química do canabinol, o primeiro fitocanabinoide não psicoativo isolado da Cannabis no final do século XIX. Em 1964, o pesquisador israelense Raphael Mechoulam isolou e purificou a molécula psicoativa Δ^9 -THC, cuja estrutura tridimensional está apresentada na Figura 5¹⁹. Gaoni e Mechoulam (2008) relataram pela primeira vez a estrutura de Δ^9 -THC e determinaram sua configuração absoluta como trans, o que foi confirmado por outras pesquisas e gerou uma série de revisões sobre as moléculas existentes na Cannabis. Ahmed et al. 2008 isolou oito novos compostos do tipo tetrahidrocanabinol. Esses compostos quando submetidos a altas temperaturas se fragmentam formando dois componentes, o Δ^9 -THC e o mono ou sesquiterpeno²⁴.

Figura 4. Estrutura química do canabinol.



Fonte: DE LIMA, 2009.

Figura 5. Estrutura tridimensional do Δ^9 -THC.



Fonte: DE LIMA, 2009.

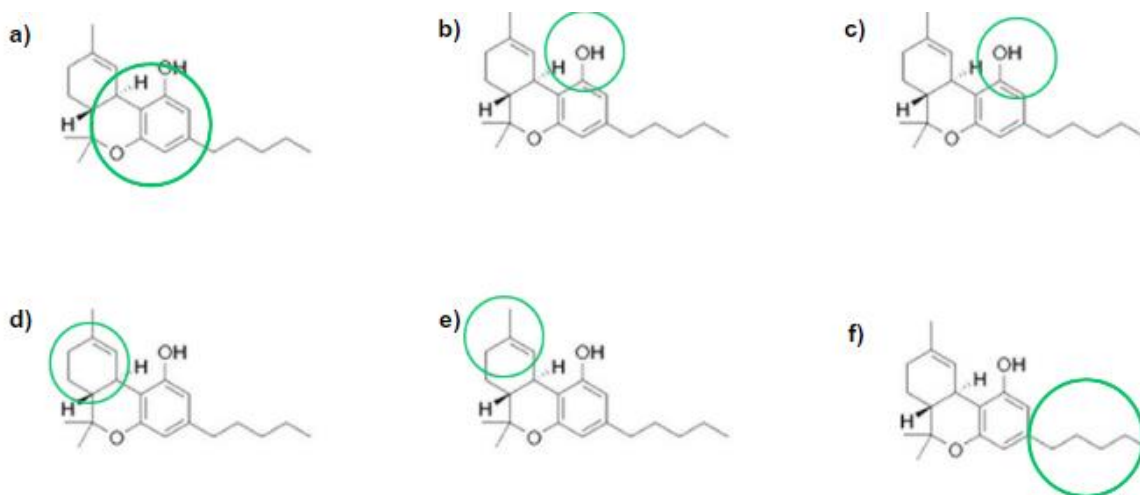
O Δ^9 -THC é o fitocanabinoide com maior potência psicoativa e a sua alta lipossolubilidade é responsável por aspectos relacionados à distribuição e eliminação no organismo. É uma molécula instável na presença de calor, luz, ácidos e oxigênio atmosférico. O canabigerol foi o primeiro fitocanabinoide isolado na forma pura da resina da Cannabis. Até hoje 17 compostos tipo CBG já foram identificados²⁵.

Existe uma relação estrutura-atividade dos fitocanabinoides que pode provocar alterações na atividade biológica, tanto em relação à disposição dos átomos no espaço como na existência de enantiômeros. Conforme consta na Figura 6, em 1992, Mechoulam, Devane e Glaser estabeleceram regras relacionadas à estrutura das moléculas para que fosse considerada um fitocanabinoide psicoativo¹⁷:

- a) deve conter em sua molécula a estrutura do dihidrobenzofurano;
- b) a hidroxila fenólica deve estar livre. Nesta regra a substituição da hidroxila por um amino diminui consideravelmente essa atividade, enquanto a substituição por um tiol elimina a psicoatividade;
- c) a hidroxilação em C-11 mantém a atividade, mas sua posterior oxidação a carboxila a elimina;
- d) a posição da ligação dupla no anel ciclohexano parece variar a atividade;
- e) o grupo metil em C-9 não é um requisito absoluto para a manutenção da atividade;

f) a cadeia lateral é de grande importância para a atividade canabinomimética, nesta regra quando a porção n-pentil alquil se alonga e se ramifica, a potência aumenta.

Figura 6. Relação estrutura-atividade da molécula Δ^9 -TH.



Fonte: GARCIA, 2000.

Algumas variáveis também influenciam a regulação dos fitocanabinoides presentes em determinado quimiotipo de Cannabis. Por exemplo, o controle genético da expressão de uma variedade de enzimas sintéticas afeta o tipo de Cannabis. Assim, o tipo selvagem pode variar em relação ao conteúdo total de fitocanabinoides quando comparado a clones, com diferenças de até 2530% (p/p) entre as inflorescências secas e aparadas¹⁹. Também, as composições e concentrações dos fitocanabinoides que estarão presentes em uma determinada planta dependem do tipo de tecido, idade, variedade, condições de crescimento e época de colheita, assim como podem ocorrer mudanças estruturais após a colheita em diferentes rotas de degradação²⁴. Como resultado da interferência dessas variáveis as espécies de Cannabis se diferenciam pela proporção de Δ^9 -THC e CBD e podem ser categorizadas de acordo com os perfis químicos de fitocanabinoides e terpenos presentes nas flores²⁶. Assim, em 1971 a Cannabis foi caracterizada em dois fenótipos, droga e fibra (Tabela 1). Proporções de Δ^9 -THC/CBD > 1 são do tipo droga, já proporções menores são do tipo fibra. Outra caracterização foi atribuída em 1973 por Small e Beckstead às subespécies de Cannabis (Tabela 1). De acordo com essa classificação, para uma razão de Δ^9 -THC/CBD > 1 seria droga, um valor próximo de

1 seria intermediário, e para um valor < 1 seria tipo fibra. Em 1987, Fournier et al. caracterizou um tipo raro de Cannabis com um teor muito baixo de $\Delta 9$ -THC como de CBD, mas com CBG predominante¹⁹.

Tabela 1. Caracterização por fenótipos, anos 1971 e 1973

Caracterização por fenótipos	
Ano: 1971	
Tipo Fibra	$\Delta 9$ -THC /CBD > 1
Tipo Droga	$\Delta 9$ -THC /CBD < 1
Ano:1973	
Tipo Fibra	$\Delta 9$ -THC /CBD > 1
Tipo Droga	$\Delta 9$ -THC /CBD < 1
Intermediário droga/fibra	$\Delta 9$ -THC /CBD próximo a 1
Fonte: BAUTISTA, YU, TIAN, 2021; THOMAS, MAHMOUD, 2016.	

Outra classificação encontrada na literatura (Tabela 2), relaciona o tipo de planta, a concentração dos fitocanabinoides e a localidade de crescimento. A partir dessa relação a Cannabis é classificada em tipos diferentes: 1) tipo droga pura, com alto teor de $\Delta 9$ -THC (2-6%) e sem CBD, estas plantas crescem em climas quentes como México e África do Sul; 2) tipo droga intermediária, com concentrações de $\Delta 9$ -THC menores e pequena concentração de CBD, estas plantas se desenvolvem em climas quentes como ao redor do Mediterrâneo, por exemplo, em Marrocos ou Líbano; 3) fibra, com teor de $\Delta 9$ -THC muito baixo ($< 0,25\%$) e teor de CBD superior a 0,5%, sendo encontradas em climas temperados como França ou Hungria, e cultivadas com fins industriais¹⁸.

Tabela 2. Caracterização por tipo de planta, concentração de fitocanabinoides e localidade de crescimento.

Caracterização por tipo de planta, concentração de fitocanabinoides, e localidade de crescimento		
Tipo droga pura	Alto teor de THC (2-6%), sem CBD	Climas quentes: México e África do Sul
Tipo droga intermediária	Menor teor de THC e CBD	Climas quentes: Mediterrâneo, Marrocos e Líbano
Tipo fibra	Teor de THC muito baixo ($< 0,25\%$) Teor de CBD superior a 0,5%	Climas temperados: França e Hungria

Fonte: GARCIA, 2000.

Como já citado, além dos fitocanabinoides, várias classes de metabólitos secundários já foram identificadas na Cannabis, tais como os flavonoides, terpenos

(monoterpenoides, triterpenoides e sesquiterpenoides) e esteroides²⁷. A concentração desses metabólitos na Cannabis pode variar em diferentes partes da planta como caule, flor, folhas, raízes e casca, e sofre interferência de fatores relacionados ao cultivo, como alterações no tempo do ciclo de crescimento²⁸. Outro fator que interfere nessa concentração está relacionado com a interferência enzimática. Por exemplo, as enzimas terpeno sintase, que participam do processo de biossíntese dos terpenos na Cannabis, geram uma grande diversidade de compostos. Alguns monoterpenos e sesquiterpenos estão presentes em praticamente todas as cepas de Cannabis, como o mirceno, α -pineno, limoneno, linalol, β -cariofileno, α -humuleno, bisabolol e (E)- β -farnesene²⁹. Em adição, Booth, Page e Bohlmann (2017) determinaram o perfil e a concentração dos terpenos de uma cepa de Cannabis, conhecida como “Finola”, confirmando a presença desses terpenos com concentrações de até 46% de β -cariofileno, 27% de mirceno e 23% de (+) - α -Pineno²⁹.

Em relação à identificação dos terpenos existem muitos desafios pois não é encontrado na literatura os padrões autênticos das moléculas, assim como há uma inconsistência na estereoquímica, dificultando a avaliação da diversidade de terpenos presentes na Cannabis²⁹. Sabe-se que os terpenos e terpenoides quando são destilados para fins de produção industrial podem não ter a sua estrutura idêntica à da planta *in natura* devido alterações que podem ocorrer no processo ou mesmo antes como localização geográfica, condições climáticas, tipo de solo, fertilizantes, idade, hora e clima do dia ou ano em que foi colhida. O oxigênio também é capaz de alterar a composição química dos terpenos, os raios UV e a oxidação podem fazer com que essas moléculas se transformem em alérgenos. São altamente voláteis, sendo os monoterpenoides mais voláteis do que sesquiterpenoides, o que resulta em grande perda de concentração durante o processo de secagem^{30;31}.

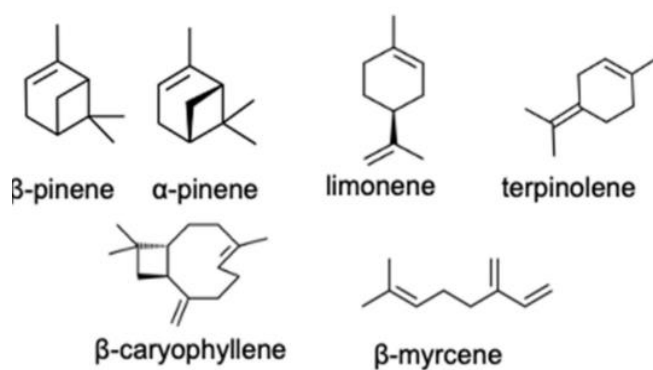
O primeiro terpeno isolado da Cannabis foi o β -cariofileno após um pesquisador notar que os trabalhadores de campos de cânhamo ficavam alegres e tontos durante a colheita. Assim, realizou destilação a vapor nas folhas frescas do cânhamo cultivado para fabricação de fibras e obteve um sesquiterpeno, que algum tempo depois foi identificado como β -cariofileno, o mais comum encontrado na Cannabis³⁰.

Cada terpeno presente na Cannabis proporciona diversos efeitos farmacológicos devido à ampla atividade biológica. O mirceno é o menor monoterpeno presente e é considerado o mais importante pois possui atividades antipsicóticas, antioxidantes, analgésicas, anti-inflamatórias, sedativas, relaxantes musculares e

anticancerígenas. O sesquiterpeno mais importante é o β -cariofileno por ser o único que interage com o sistema endocanabinoide através da ligação seletiva com o receptor CB2. Os efeitos farmacológicos abrangem efeitos gastroprotetores, analgésicos, anticancerígenos, antifúngicos, antibacterianos, antidepressivos, anti-inflamatórios, antioxidantes, ansiolíticos, analgésicos, neuroprotetores, e possui um alto índice de seletividade contra o vírus herpes simples tipo em estudos *in vitro*³⁰.

Hanus et al (2020), identificaram diferentes concentrações de terpenos em duas variedades da *Cannabis sativa*, o cânhamo, que apresenta baixa concentração de CBD e Δ 9-THC, sendo mais utilizada para fabricação de fibras e na Cannabis medicinal, que apresenta alta concentração de CBD e Δ 9-THC. No óleo essencial de cânhamo, predominaram os monoterpenos, enquanto na Cannabis medicinal a maior concentração encontrada foi de sesquiterpenos/sesquiterpenoides. Em todas as amostras utilizadas na pesquisa os principais terpenos encontrados foram: β -cariofileno, β -mirceno, α -pineno, α -humuleno, limoneno e β -pineno, Figura 7. Um resultado importante que foi observado é que o principal terpeno em cada quimiotipo não ultrapassa 20% do total da amostra analisada³⁰.

Figura 7. Estrutura química dos principais terpenos encontrados na *Cannabis sativa*.



Fonte: SOMMANO, et al; 2020.

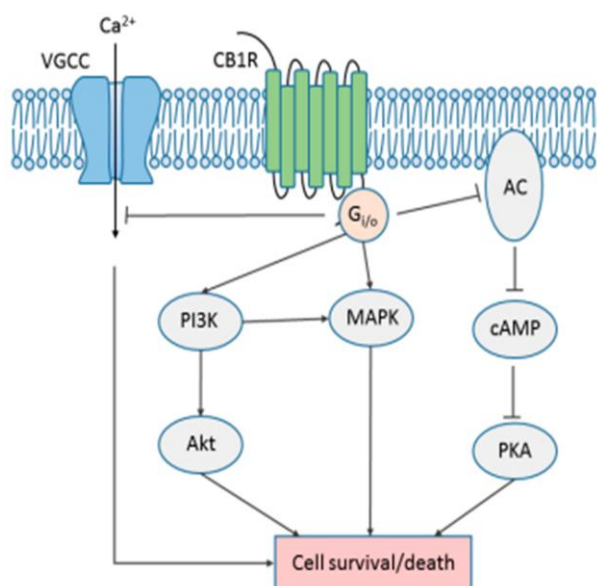
3.3 Fitocanabinoides e seus receptores

A compreensão sobre a composição fitoquímica da Cannabis promoveu um aumento significativo de estudos relacionados ao perfil farmacológico da Cannabis, gerando conhecimento sobre os seus mecanismos de ação e seus receptores. Assim, sabe-se que os fitocanabinoides, produzidos pelas plantas, e os endocanabinoides,

produzidos pelo organismo humano, exercem seus efeitos por atuarem nos receptores canabinoides CB1 e CB2³². Receptores canabinoides receberam esse nome, pois são os receptores que respondem às moléculas fitocannabinoides, como o Δ^9 -THC e seus análogos sintéticos ativos biologicamente³³.

Os receptores CB1 e CB2 apresentam um sistema primário de transdução de sinal bastante semelhante. Ambos os receptores são acoplados à proteína G e atuam inibindo a adenilciclase (que leva à diminuição dos níveis de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMP cíclico) e reduz a atividade da fosfoquinase A (PKA), inibindo canais de Ca^{2+} dependentes de tensão e ativando canais de K^{+} . Os receptores canabinoides também estimulam a via de quinases ativadas por mitógeno (MAP) e da inositol-3-fosfato (IP3) quinase, entre outras vias intracelulares, que estão acoplados à proteína G, veja representação na Figura^{1,10}.

Figura 8. Representação sistema primário de transdução de sinal através da proteína G.



Fonte: ZOU, KUMAR, 2018.

O receptor CB1 está amplamente distribuído no sistema nervoso central, em regiões como bulbo olfatório, hipocampo, gânglios da base e cerebelo. Uma expressão moderada é encontrada no córtex cerebral, septo, amígdala, hipotálamo, partes do tronco cerebral e no corno dorsal da medula espinhal. O CB1 também tem expressão no sistema nervoso periférico em terminais nervosos simpáticos, gânglio trigêmeo, gânglio da raiz dorsal e terminações nervosas dérmicas de neurônios

sensoriais primários, regulando a nocicepção de fibras nervosas aferentes. Estão presentes nos terminais pré-sinápticos dos neurônios para reduzir a liberação de neurotransmissores, principalmente em neurônios GABAérgicos e em menor quantidade em neurônios glutamatérgicos. No geral estão presentes em toda membrana plasmática dos endossomos e das mitocôndrias. Também são expressos em astrócitos, oligodendrócitos e seus precursores e alguns subtipos gliais^{34;4}.

No sistema nervoso entérico o CB1 pode participar da regulação da mobilidade do trato gastrointestinal, da secreção de ácidos gástricos, fluidos, neurotransmissores e hormônios e permeabilidade do epitélio intestinal. Existe uma expressão baixa no fígado, porém em condições patológicas essa expressão aumenta contribuindo para a ocorrência de resistência hepática à insulina, fibrose e lipogênese. O CB1 também é encontrado no tecido adiposo, músculo esquelético, osso, pele, olhos, sistema reprodutivo, vários tipos de células cancerígenas, coração, pulmão, próstata, fígado, útero, ovário, testículos, ducto deferente e osso^{34;4}.

O CB2 foi descoberto em macrófagos presentes no baço e são expressos em maior quantidade em células imunes e tecidos periféricos, como os do sistema cardiovascular, trato gastrointestinal, fígado, tecido adiposo, ósseo e sistema reprodutivo. Apesar da maior concentração ser expressa nesses locais, há estudos demonstrando a expressão no cérebro, porém em baixa quantidade, mas desempenhando atividades neurológicas como nocicepção, dependência de drogas, neuro inflamação e modulação da excitabilidade neuronal por meio da regulação do canal $\text{Ca}^{2+}/\text{Cl}^-$ ativado³⁴.

Devido a essa ampla distribuição do CB1 e CB2 em diversos sistemas há um envolvimento desses receptores em diversos distúrbios e patologias. O receptor CB1 inibe a liberação de GABA (Ácido γ -aminobutírico) e glutamato dos terminais pré-sinápticos, modulando a neurotransmissão e gerando uma neuro proteção contra a citotoxicidade que ocorre em distúrbios neurológicos como epilepsia e doenças neurodegenerativas. A regulação positiva da atividade do CB1 e do sistema endocanabinoide foi observada nos gânglios da base, podendo ser um mecanismo para compensar os neurônios dopaminérgicos degenerados da substância negra ou no processo patológico que contribui para o agravamento da doença de Parkinson. Assim, a diminuição da atividade do sistema endocanabinoide foi relatada em modelos de experimentos para a doença de Parkinson. Experimentos com modelos animais relataram que a ativação do CB1 em pacientes com doença de Alzheimer previne a

neurotoxicidade induzida por β -amilóide, além de ser benéfica no déficit de memória e nos distúrbios cognitivos³⁴.

3.4 Aspectos farmacológicos dos fitocanabinoides

A descoberta dos receptores canabinoides permitiu a identificação de moléculas endógenas semelhantes aos fitocanabinoides, os endocanabinoides, e revelou a existência do sistema endocanabinoide³⁵. De modo que os efeitos dos fitocanabinoides e endocanabinoides resultam dos mesmos mecanismos biológicos³⁶. Para o receptor CB1 inicialmente foi possível identificar o primeiro agonista endógeno, a anandamida (AEA). Em seguida, em razão da AEA não apresentar os efeitos psicoativos semelhantes ao Δ^9 -THC, novas pesquisas promoveram a identificação do segundo endocanabinoide, o 2-araquidonoilglicerol (2-AG)³⁴.

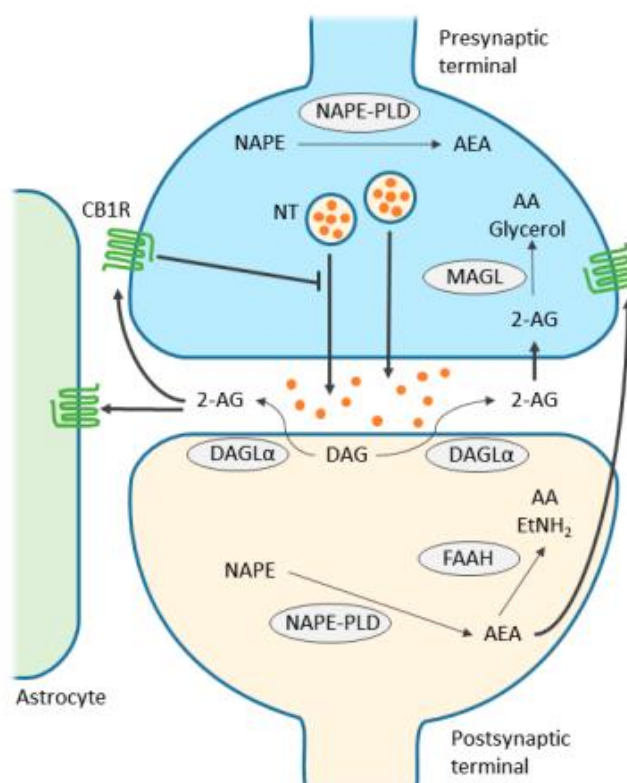
A AEA e o 2-AG atuam nos receptores CB1 e CB2 e interagem com o receptor TRPV1 (receptor de capsaicina e receptor vanilóide 1), canal catiônico de potencial transiente subfamília V membro 1, essencial na transmissão sináptica e regulação da dor. Estes dois endocanabinoides são produzidos apenas sob demanda em resposta ao aumento da concentração de Ca^{+2} intracelular. Existem várias vias para a síntese e degradação da AEA e do 2-AG. A AEA origina-se a partir de um precursor fosfolipídico, o N-araquidonil-fosfatidil-etanolamina (NArPE). O NArPE é transformado em AEA através de quatro vias distintas, sendo que a mais estudada e direta (aquela que não produz intermediários) é a via catalisada pela enzima N-acilfosfatidiletanolamina fosfolipase D (NAPE-PLD). As outras três vias são catalisadas pelas seguintes enzimas: 1) fosfolipase C e tirosina fosfatase; 2) fosfolipase A1/2 e fosfolipase D; 3) $\alpha\beta$ -hidrolase e glicerolfosfodiester-fosfodiesterase. Ao contrário da AEA, o 2-AG é sintetizado predominantemente a partir do diacilglicerol (DAG) através da ação da enzima DAG-lipase. A inativação dos endocanabinoides é dependente da recaptação desses para o interior da célula. Apesar das características lipídicas, as evidências sugerem que a recaptação ocorre através da difusão facilitada por transportador de membrana. Após a recaptação, a AEA é metabolizada pela enzima amida hidrolase de ácidos graxos, enquanto o 2-AG é metabolizado preferencialmente pela monoacilglicerol lipase³⁴.

A concentração de 2-AG no cérebro é maior que a da AEA, ele exerce efeitos na sinalização retrógrada mediada por endocanabinoides, sugerindo ser o principal ligante endógeno no sistema nervoso central. Porém, a AEA ativa o TRPV1, inibe canais de Ca^{2+} de forma independente, regula negativamente a biossíntese de 2-AG e os efeitos fisiológicos no corpo estriado, demonstrando papel na regulação da transmissão sináptica³⁴.

O sistema endocanabinoide possui diversas características que o diferenciam de um sistema neurotransmissor clássico. Entre elas está a direção da comunicação endocanabinoide célula a célula, a biossíntese única de lipídios endocanabinoides na localização e regulação temporal, e a maneira de alcançar a seletividade de sinalização endocanabinoide⁴.

Também, a direção da comunicação endocanabinoide célula a célula, denominada neurotransmissão retrógrada, diferencia os endocanabinoides dos neurotransmissores clássicos pelo local de liberação e ação, e principalmente pela direção de comunicação célula-a-célula, liberados do neurônio pós-sináptico, percorrendo de forma retrógrada através da fenda sináptica para atuar no receptor pré-sináptico. Essa ativação dos receptores canabinoides pré-sinápticos modula a liberação dos neurotransmissores clássicos, caracterizando o sistema endocanabinoide como um sistema neuro modulator. Na Figura 9 é possível visualizar a representação da sinalização sináptica retrógrada mediada por endocanabinoides⁴.

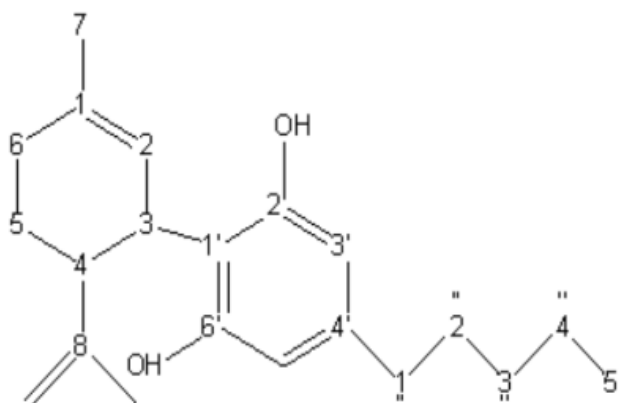
Figura 9. Representação da sinalização sináptica retrógrada mediada por endocanabinóides.



Fonte: ZOU, KUMAR, 2018.

Diferente de outros neurotransmissores que são sintetizados no corpo celular e embalados em vesículas secretoras, transportados para terminais de axônios e armazenados para liberação após a propagação de um potencial de ação, os endocanabinóides ocorrem sob demanda em resposta ao aumento de Ca^{2+} intracelular ou ativação da via da fosfolipase C ao nível da membrana plasmática a partir de fosfolípidios presentes na membrana celular. Outro ponto de diferenciação em relação aos neurotransmissores clássicos está relacionado à seletividade funcional para a ligação com os receptores CB1 e CB2⁴.

Um momento importante na história da Cannabis foi o isolamento do CBD que aconteceu em 1940. Porém, a estrutura química do CBD somente foi definida por Mechoulam e Shvo em 1963, conforme representado na Figura 10. Até o início da década de 1970 acreditava-se que o CBD era uma molécula sem atividade própria. Mas, neste mesmo período, pesquisas demonstraram que o CBD não possuía os efeitos psicotrópicos experimentados pelo consumo de Cannabis³⁷.

Figura 10. Estrutura química do CBD.

Fonte: DE LIMA, 2009.

De acordo com a literatura, o CBD age em distúrbios que afetam o sistema nervoso central como epilepsia, esquizofrenia, autismo, vício, lesão cerebral traumática e isquêmica, esclerose múltipla, ansiedade, depressão, estresse pós-traumático, transtorno obsessivo-compulsivo e doenças neurodegenerativas. Nas crises convulsivas o CBD sendo utilizado como um agente adjuvante demonstrou reduzir significativamente a frequência de convulsões em comparação com o placebo. Em relação aos transtornos de ansiedade foi observado que a administração crônica de CBD durante 14 ou 21 dias produz efeito do tipo ansiolítico em roedores previamente expostos ao estresse crônico, assim como baixas doses também produzem comportamentos do tipo ansiolítico, enquanto a administração de altas doses promoveram uma ação do tipo ansiogênico³⁷.

Por possuir propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anti-apoptóticas e neuro protetoras, o CBD demonstrou possuir atividade em modelos *in vivo* e *in vitro* de isquemia, doença de Alzheimer, doença de Huntington, esclerose múltipla e doença de Parkinson. CBD reduz a hiper fosforilação da proteína tau, reduz a produção de interleucinas e óxido nítrico no cérebro, recupera a depleção de dopamina nos neurônios nigroestriatais, reduz os sintomas psicóticos sem influenciar os sinais cognitivos e motores da doença de Parkinson quando associado a medicamentos usados na clínica, diminui a encefalomielite autoimune experimental aumentando as citocinas anti-inflamatórias e reduzindo as pró-inflamatórias em modelos de esclerose múltipla. No geral, os principais mecanismos de neuro proteção

são mediados pela redução do estresse oxidativo e ação anti-inflamatória induzida CBD³⁷.

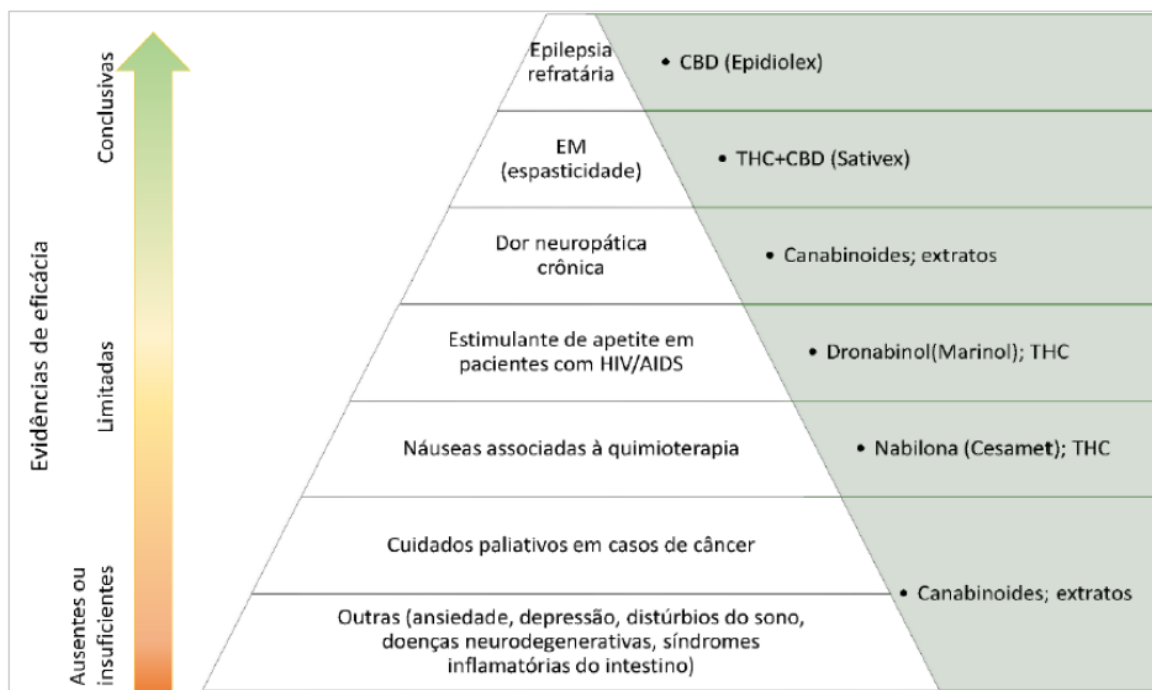
O CBD sofre intenso metabolismo de primeira passagem, sendo metabolizado pelo complexo CYP450, e apresenta baixa solubilidade em soluções aquosas, por isso normalmente as formulações são desenvolvidas em óleo³⁸.

Desde 1964, ano em que $\Delta 9$ -THC foi isolado na forma pura, diversas evidências surgiram para demonstrar os seus efeitos nos processos fisiológicos. O $\Delta 9$ -THC tem uma potente ação anti-inflamatória, demonstrada através de um modelo edema de pata induzido por carragenina de inflamação aguda em ratos, sendo 80 vezes mais potente que a aspirina e duas vezes mais potente que a hidrocortisona. Células de camundongos tratadas com $\Delta 9$ -THC produziram níveis reduzidos de interferons, fornecendo em 1980 a primeira evidência de que os fitocanabinoides podem modular a produção de citocinas³⁹.

Um grupo de pesquisadores demonstrou através de um modelo de dor aguda em roedores que o $\Delta 9$ -THC aumenta sinergicamente os efeitos antinociceptivos de vários opioides, demonstrando ser uma estratégia para reduzir as doses analgésicas eficazes dos opioides, diminuindo a probabilidade de abuso e efeitos colaterais indesejados dependentes da dose, como constipação e depressão respiratória. Além desta resposta, com o uso do $\Delta 9$ -THC, inibidores das enzimas catabólicas endocanabinoides também aumentam os efeitos antinociceptivos dos opioides⁴.

Porém, é possível constatar que em razão das dificuldades impostas pelas políticas de controle internacionais vigentes, o conhecimento científico sobre as propriedades terapêuticas da *Cannabis sativa*, em especial da CBD e do $\Delta 9$ -THC, bem como do número de condições patológicas para as quais há evidências científicas sólidas quanto a eficácia de produtos medicinais obtidos a partir dessa espécie, ainda é limitado, como demonstrado na Figura 11⁴⁰.

Figura 11. Principais alegações terapêuticas de *C. sativa* e seus derivados relatadas em literatura.



Fonte: BRASÍLIA (DF). RELATÓRIO DE ANÁLISE DE IMPACTO REGULATÓRIO SOBRE PRODUTOS DE CANNABIS PARA FINS MEDICINAIS, 2023.

Quanto aos canabinoides sintéticos, estes já foram desenvolvidos com base da estrutura química dos fitocanabinoides e um exemplo é a Nabilona, estruturalmente semelhante ao Δ^9 -THC. A Nabilona é comercializada com o nome comercial de Cesamet® e está disponível em cápsulas orais de 1 e 2 mg, tanto nos Estados Unidos como na Europa⁴.

Na terapêutica este medicamento é utilizado para o tratamento de náusea e vômito decorrente de tratamento de quimioterapia. Porém, há diversos estudos sobre o uso no tratamento da dor neuropática e outras síndromes dolorosas. Um estudo controlado em que a Nabilona foi administrada três vezes ao dia em pacientes com dor pós-operatória demonstrou aumento nos valores da escala analógica visual para avaliação da analgesia. Além disso, em pacientes com síndrome espástica mista, a Nabilona melhorou os escores de dor quando comparada ao placebo, porém sem melhora de espasticidade, função motora ou atividades do dia a dia. Pacientes portadores de fibromialgia tiveram redução significativa na escala analógica visual e efeito ansiolítico quando comparado com placebo. Em análise do uso de Nabilona

versus gabapentina, os efeitos foram comparativos na redução da dor neuropática periférica e em outros sintomas⁴¹.

Infelizmente os canabinoides sintéticos tiveram os seus fins desviados e começaram a ser usados como drogas de abuso. O efeito intoxicante, psicotrópico ocorre de forma exacerbada e não são detectados em testes comuns de rastreio de drogas. A primeira geração de canabinoides sintéticos como o JWH018 foi adicionado a matéria vegetal e vendido como “Spice” ou “K-2”. Os canabinoides sintéticos ilícitos representam uma ameaça maior à segurança pública do que a Cannabis pelas consequências fatais⁴.

3.5 Interações farmacológicas dos fitocannabinoides

Como já citado, a Cannabis também possui além dos fitocannabinoides diversas outras moléculas com propriedades biológicas. A soma desses efeitos na Cannabis é conhecida como “efeito entourage”, onde os efeitos da totalidade da planta são maiores do que a soma dos seus componentes individuais. Muitos estudos demonstram através de evidências que os extratos da Cannabis têm efeitos que não podem ser atribuídos a moléculas individuais. Estas interações podem ocorrer através de vários mecanismos que podem interferir na biodisponibilidade, nos processos de transporte celular, na ativação ou desativação de compostos ativos, e em diferentes pontos da mesma cascata de sinalização ou inibição da ligação a proteínas alvo^{42;43}.

O início das pesquisas sobre o efeito entourage iniciou com o relato que a atividade biológica de 2-AG pode ser aumentada por dois 2-acil-gliceróis endógenos relacionados, 2-linoleoil-glicerol e 2-palmitoil-glicerol, que sozinhos não demonstraram atividade significativa. Além de potencializar a ligação da anandamida e a inibição da adenilil ciclase, também potencializam a inibição do comportamento motor por 2-AG, imobilidade em anel, analgesia em placa quente e hipotermia em camundongos e o 2-linoleoil-glicerol inibe a inativação de 2-AG por células neuronais e basofílicas. Outras pesquisas demonstraram a atividade do efeito entourage através da regulação negativa da expressão de FAAH, enzima responsável pela degradação da anandamida, através do éster 2-palmitoil-glicerol no câncer de mama. Esta regulação negativa aumento os efeitos citostáticos induzidos por anandamida, mediadas pelo receptor CB1³⁵.

Estudos demonstraram interação entre os fitocanabinoides CBD e Δ 9-THC, com o CBD aumentando ou inibindo sinergicamente os efeitos do Δ 9-THC, dependendo da dosagem e frequência da dosagem⁴². Já, a interação entre terpenos e fitocanabinoides foi analisada no desenvolvimento e depósito da patente de um adesivo transdérmico, que transfere fitocanabinoides na corrente sanguínea utilizando um terpeno como agente de permeação. Também foi verificado que os terpenos modulam a afinidade do Δ 9-THC com o receptor CB1 e interage com os receptores de neurotransmissores, apoiando o efeito dos terpenos no processo de analgesia e em efeitos psicóticos mediados por fitocanabinoides⁴³.

O medicamento registrado Sativex® é produzido a partir do extrato bruto da planta, administrado como um *spray* bucal. Além de Δ 9-THC e canabidiol, o Sativex® possui em sua composição outros canabinoides menores e terpenoides que combinam os efeitos farmacológicos através do efeito entourage. Sativex® é prescrito para o tratamento da dor do câncer refratária ao uso de opioides e para o alívio de sintomas relacionados à esclerose múltipla, como dor neuropática de origem central e espasticidade. Através de estudos foi demonstrado a ação desta formulação em indivíduos portadores de artrite reumatoide resultando na melhora significativa da dor tanto em repouso como em movimento. Também foi utilizado em pacientes com quadro clínico de dor neuropática periférica associada com alodínia e houve redução dos níveis tanto de dor como de alodínia⁴¹.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para a elaboração do presente trabalho, foram utilizadas as seguintes bases de dados: Elsevier, Pubmed, Google Scholar, Scielo, Periódicos Capes e outros bancos de dados cientificamente relevantes. As principais palavras-chave utilizadas foram: *Cannabis sativa*, canabidiol, metabólitos secundários da Cannabis, efeito comitiva/entourage, sistema endocanabinoide, fitocanabinoides, extração de fitocanabinoides. Não houve limitação de data de publicação para os trabalhos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. 1 Condições de plantio da *Cannabis sativa* para obtenção de maiores concentrações de metabólitos secundários

A partir dos dados obtidos na literatura importantes condições foram constatadas:

- 1) A *Cannabis* é uma planta de dia curto, ou seja, a floração está relacionada à diminuição da luz diurna, quando os dias ficam mais curtos. Desta forma, artificialmente é possível induzir a floração controlando a iluminação que as plantas recebem.

Estudos têm mostrado que em ambiente natural a floração inicia no outono, quando as proteínas fotorreceptoras induzem uma resposta ao aumento sazonal da duração da noite. No cultivo interno o crescimento é induzido a um dia artificial de outono, não permitindo a entrada de luz natural por mais de 12 horas por dia. A floração é induzida alterando para um regime de 12 horas/dia e 12 horas/noite^{17;19;44}. O crescimento da *Cannabis* é dependente da duração do dia. Nos três primeiros meses a planta se desenvolve conforme aumento da duração do dia com um crescimento vegetativo mais vigoroso, depois é necessário dias de outono mais curtos para florescer e completar o ciclo de vida¹⁴.

- 2) As sementes de *Cannabis* podem crescer nos mais diversos tipos de solos e climas e necessitam de pouco cuidado depois que conseguem fixar suas raízes no solo. O crescimento da *Cannabis* passa por 4 fases e alguns fatores, tais como a latitude influencia na ocorrência das variedades de *Cannabis*.

Diferentes estudos demonstram que em ambientes temperados, as sementes são semeadas ao ar livre na primavera e germinam em três a sete dias^{19;17;44;18;14}. Seu ciclo de crescimento é dividido em quatro fases: germinação, fase vegetativa, floração e formação de sementes, e senescência. A fase vegetativa possui mais 3 fases de desenvolvimento: fase juvenil; fase fotossensível e fase de desenvolvimento da flor. Após a produção de pólen as plantas masculinas cessam o desenvolvimento e morrem⁴⁵.

A semente começa a brotar após o quarto dia do plantio e a germinação inicia no 15º dia. A germinação é dependente de diversos fatores como variedade, idade da semente, condições de armazenamento e temperatura do solo e da água. Após duas semanas inicia a floração, sendo que as flores masculinas florescem uma semana antes das flores femininas¹⁹.

Uma semana após a redução da duração do dia inicia a floração, o desenvolvimento do caule e do foliar diminuem e cessam após 3 semanas, porém a floração continua em crescimento com desaceleração após 8 semanas⁴⁴.

Em 1973, Small e Beckstead coletaram amostras de 50 países que foram cultivados ao ar livre durante o verão de 1971. Essas amostras foram classificadas de acordo com a concentração de CBD e/ou $\Delta 9$ -THC, a latitude de plantio e posteriormente consideradas variedades tipo droga ou tipo fibra. A origem de acordo com a latitude em que foram plantadas e colhidas demonstrou influência quando relacionado a diferença nas variedades. Clarke confirmou essa correlação entre os anos de 1977 e 1981, demonstrando que os tipos de fibra e semente ocorrem 30 graus de latitude ao norte e os tipos de drogas ocorrem, 30 graus de latitude ao sul¹⁴.

Fatores climáticos como nebulosidade média anual e temperatura média também são capazes de influenciar as concentrações dos fitocanabinoides. Quando o crescimento da Cannabis ocorre em regiões ensolaradas e quentes há um favorecimento da biossíntese de alto teor de $\Delta 9$ -THC, enquanto regiões nubladas e frias favorecem a alta biossíntese de CBD¹⁴, assim como um verão fresco pode reduzir os teores de fitocanabinoides; condições secas e ventosas podem aumentar o teor de fitocanabinoides e o teor de $\Delta 9$ -THC das folhas diminui após a fertilização consistente com nitrogênio⁴⁶.

3. Além de interferências nas variedades de Cannabis relacionadas à latitude do plantio, a temperatura, luz e ar também influenciam na estabilidade e concentração dos fitocanabinoides Lazarjani, *et al.* (2021) identificaram alteração na descarboxilação do $\Delta 9$ -THCA e $\Delta 9$ -THC na resina da Cannabis pela exposição à luz. Essa visualização foi possível através do aumento da meia-vida dessas moléculas em 40% quando alocadas no escuro. Apesar dessa evidência de degradação, acredita-se que a exposição à luz na resina atinja apenas os fitocanabinoides presentes na superfície dos tricomas. Quando a resina é comparada com o extrato, a degradação pela exposição ao ar é maior. No mesmo estudo, o extrato teve uma meia-vida 10 vezes menor

em relação a resina (35 dias - extrato/330 dias - resina), e a concentração de $\Delta 9$ -THCA diminuiu para níveis não detectáveis após 140 dias⁴⁷.

Fischedick, *et al.* (2010), demonstraram que o corte dos ramos inferiores de uma variedade de *Cannabis* resultou em concentrações mais baixas. Esses compostos são mircenol, cisocimeno, b-cariofileno, CBG e $\Delta 9$ -THC. Com esse resultado é possível sugerir que o corte dos galhos inferiores permite o fluxo de mais água e nutrientes para a parte superior da planta, mais próxima da luz, alterando o perfil químico²⁸.

O período das fases de crescimento da planta apresenta concentrações variadas de fitocanabinoides. As duas primeiras semanas da fase vegetativa tem concentrações menores enquanto nas duas últimas, entre os dias 84 e 94 as concentrações de $\Delta 9$ -THCA e CBDA aumentam mesmo sem que ocorra o crescimento das plantas, gerando acúmulo de fitocanabinoides e então conforme a planta cresce e os tricomas se desenvolvem, a concentração de fitocanabinoides aumenta⁴⁸.

5. 2 Condições de armazenamento da *Cannabis sativa* para obtenção de maiores concentrações de metabólitos secundários

A partir dos dados obtidos na literatura importantes condições foram constatadas:

1. Os perfis de metabólitos secundários da *Cannabis* também sofrem alterações após a colheita, nos processos de secagem, extração e armazenamento, sendo um desafio para produtores⁴⁹.

Após o processo de separação e moagem a biomassa gerada também pode ser armazenada em tambores aprovados pela FDA, feitos de fibra, selados, com sacos de polietileno, em temperaturas entre 18 °C a 20 °C por curto prazo de armazenamento. Quando há necessidade de armazenamento a longo prazo, recomenda-se o armazenamento em freezer a -10 °C¹⁹.

Addo, *et al.* (2021), estabeleceram que os fatores que podem causar instabilidade no perfil de fitocanabinoides no armazenamento pós-colheita estão relacionados à atividade microbiana, o teor de umidade, temperatura ambiente, a duração do contato com a luz. A *Cannabis* pode ser armazenada em um saco hermético, no escuro, em sala fria (3 °C) sem ocorrer a degradação de metabólitos

secundários. Essa forma de armazenamento é conhecida como cura e é realizada com o objetivo de preservar compostos voláteis como terpenos e promover a descarboxilação do $\Delta 9$ -THCA em $\Delta 9$ -THC sob condições de armazenamento controladas. A atividade microbiana de organismos patogênicos também é inibida durante a cura⁴⁹.

Por meio de um estudo de estabilidade realizado na Universidade Federal da Integração Latino-Americana, foi possível surgir uma recomendação sobre o armazenamento ideal de óleos de extratos de Cannabis. Extratos ricos em $\Delta 9$ -THC devem ser armazenados em baixas temperaturas ao abrigo de luz, e quando ricos em CBD armazenados a baixas temperaturas com luz. Porém, mesmo com esse armazenamento, o estudo de estabilidade demonstrou que após 150 dias os teores de fitocanabinoides diminuem para menos de 50% da concentração, sendo necessário o ajuste de dosagem da posologia. Além disso, esse mesmo autor relatou que os fitocanabinoides, além de sofrerem alterações nas estruturas químicas por fatores climáticos e manipulação arquitetônica da planta, após o processo de fabricação do óleo, o armazenamento desses produtos pode alterar a estabilidade dos fitocanabinoides. A temperatura é um fator crítico durante o armazenamento, já que os fitocanabinoides sofrem alterações estruturais por descarboxilação em determinadas temperaturas. Um estudo que tinha como objetivo avaliar variáveis como temperatura e luz ao longo de 4 anos em blocos de resinas apreendidas pela polícia foi realizado e as amostras foram armazenadas em sacos plásticos, selados e armazenados em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, no escuro e com luz artificial. No primeiro ano, não apresentaram sinais significativos de degradação nos níveis de $\Delta 9$ -THC, CBD e CBN, atingindo valores médios de 5,1% para os três fitocanabinoides. Enquanto as amostras expostas à luz artificial demonstraram níveis de degradação superiores a 11,8% para o $\Delta 9$ -THC e de 8,3% para o CBD. Em complemento, também foi realizado um estudo pelo período de 4 anos e obteve resultados semelhantes, sendo que as amostras neste caso foram expostas a luz ambiente, com temperatura de $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ou no escuro a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. A perda de $\Delta 9$ -THC no primeiro ano para o armazenamento no escuro a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ foi de 21,6% e 83,8% após 4 anos; e o armazenamento a luz ambiente em $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ apresentou perda de concentração do $\Delta 9$ -THC de 23,2% e 89,90% no final do estudo. Os resultados para o CBD apresentaram uma média de 2,76% de perda a cada três meses e 3,35% à luz ambiente em $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ⁵⁰.

5.3 O método mais adequado de extração dos fitocanabionoides e terpenos da *Cannabis sativa*

A partir dos dados obtidos na literatura foi possível constatar:

1. Os diferentes métodos de extração estão diretamente relacionados à composição do óleo medicinal, sendo de extrema importância a avaliação do método a ser usado, levando em consideração a relação custo-benefício, segurança, qualidade, aspectos químicos e botânicos do vegetal. Os parâmetros mais relevantes no processo de extração dos fitocanabinoides são a temperatura, a pressão, o pré-tratamento e a natureza do solvente.

Nos diversos estudos realizados, mais de 750 componentes químicos foram identificados na *Cannabis sativa*, por exemplo: monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, esteroides, compostos nitrogenados e fitocanabinoides e devido a essa grande quantidade de compostos existe a necessidade de padronização em relação à composição e dosagem do produto que será utilizado^{20;51}.

Essa alta complexidade gera um desafio para a padronização pois cada molécula possui diferentes quimioafinidades e diferentes sensibilidades a vários parâmetros dos processos, resultando em diferentes composições finais com quantidades variadas de fitocanabinoides e terpenoides, dependendo do método de extração escolhido^{51;52}.

O processo de extração é utilizado para obter compostos bioativos de uma matéria vegetal complexa, aumentar a seletividade e sensibilidade de bioensaios aumentando a concentração de uma molécula alvo⁴⁷.

As técnicas de extração mais utilizadas em plantas são: maceração, infusão, percolação, digestão, decocção, Soxhlet, hidrodestilação e arraste à vapor d'água, extração assistida por micro-ondas, extração por ultrassom e extração por fluido supercrítico. O resultado da extração são misturas complexas de metabólitos, no estado líquido, semissólido ou pó seco que pode ser utilizado como fitoterápico, na forma de tinturas ou extratos fluidos ou ser processado para incorporação em formulações como comprimidos, cápsulas, óleos e cremes⁵³.

Dependendo do objetivo final da extração, misturas de solventes podem ser utilizadas e essas misturas podem ser altamente tóxicas, por isso é preconizado seguir os limites estabelecidos pela Conferência Internacional de Harmonização (ICH). A ICH

tem relatado o uso de solventes “verdes” para a extração de fitocanabinoides com grau farmacêutico, chamados de solvente eutético profundo, com patentes sendo apresentadas ao mercado, porém com poucas informações⁵⁴.

As características do produto que será desenvolvido devem ser consideradas já que dependendo da aplicação, os fitocanabinoides podem ser extraídos na forma ácida ou neutra. Para que ocorra a preservação dos fitocanabinoides ácidos a extração precisa ocorrer em temperatura ambiente. Como no processo de descarboxilação dos fitocanabinoides ácidos temperaturas altas são necessárias, ocorre a perda de alguns terpenos que atuam no efeito entourage da *Cannabis sativa*⁴⁷.

2. O ciclo de processamento da Cannabis envolve as etapas de colheita, secagem, moagem, extração e desenvolvimento do produto²¹. Diversos métodos podem ser empregados durante o processo de secagem, e as vantagens e desvantagens, como crescimento de fungos, efeito da gravidade e alteração do perfil de fitocanabinoides, devem ser bem estabelecidas para que o produto final mantenha a qualidade adequada.

Após a colheita e antes do processo de extração a Cannabis precisa ser submetida ao processo de secagem, diretamente no ar, em estufa ou por liofilização^{47;55}. A secagem da planta evita o crescimento de microrganismos e permite o armazenamento a longo prazo, mantendo a potência, sabor, propriedades medicinais e eficácia⁴⁷.

A secagem ao ar é antiga e não requer equipamentos específicos. As plantas são colocadas inteiras em uma sala escura com temperatura entre 18 °C e 25 °C com umidade entre 45 e 55%, penduradas em barbante ou dispostas em telas de secagem. Esse processo que também é conhecido como cura oxida determinada concentração de Δ^9 -THC em CBN e converte o terpeno mirceno em 5,5- dimetil-1-vinilbicyclol [2.1.1] hexano (hashishene), conhecido por ser um terpeno raro e distinto^{47;55}.

A secagem ao ar também é conhecida como secagem “em gaiola” e necessita de um tempo médio de 5 a 6 dias. O tempo e a temperatura propiciam crescimento de fungos, sendo um problema frequente para quem utiliza esta técnica de secagem. Para minimizar o crescimento de fungos foi desenvolvida uma técnica patenteada que envolve a secagem intermitente em três etapas. As temperaturas iniciais da primeira etapa, entre 50 °C e 60 °C com umidade < 80% UR por até 5 horas, resultará na inativação de esporos de mofo e evitará a rápida evaporação das moléculas voláteis.

Na segunda etapa a temperatura e a umidade devem ser reduzidas para evitar desnaturação térmica, porém com secagem constante. Uma maior redução da umidade é necessária durante a terceira etapa, mantendo a temperatura para atingir a umidade de equilíbrio com um teor de aproximadamente 8% a 9%²¹.

Outra desvantagem encontrada neste processo é a gravidade pois a água da parte superior da planta será absorvida pelas partes inferiores, gerando um processo de secagem mais lento e desigual. Para acelerar a secagem podem ser utilizados aquecedores, ventiladores e desumidificadores, porém a secagem rápida pode produzir um sabor mais áspero, ao contrário da secagem lenta, que produz produtos com sabor mais suave⁴⁷.

A secagem por estufa com ou sem circulação de ar, câmara de vácuo ou dessecador a vácuo também altera o rendimento dos fitocanabinoides, como demonstrado por Coffman e Gentner (1974). O rendimento de CBD e Δ^9 -THC diminuiu com o aumento da temperatura e do tempo de secagem. Na temperatura de 105°C houve degradação de Δ^9 -THC em CBN, analgésico psicoativo menos potente, podendo ocorrer diminuição do potencial terapêutico esperado⁴⁷.

Observando os fatores de interferência ocasionados pelo método de secagem ao ar e por estufa, um método foi desenvolvido para suprir a necessidade de produtos de alta qualidade, a liofilização. Esse método mantém a planta em temperaturas muito abaixo do ar ou do forno e remove o conteúdo de água na forma de vapor via sublimação em uma câmara de vácuo, preservando os compostos voláteis e a forma ácida dos fitocanabinoides. Os produtos derivados da secagem por liofilização são considerados de alta qualidade devido à rigidez estrutural encontrada na superfície dos materiais congelados onde ocorre a sublimação, impedindo a desintegração da matriz sólida e resultando em uma estrutura porosa e inalterada. A principal desvantagem da liofilização é o custo da operação que necessita de grande quantidade de energia⁴⁷.

As condições de secagem da Cannabis é um fator essencial para o perfil de fitocanabinoides no produto final, como demonstrado por Coffman e Gentner (1974), por meio da avaliação do efeito das condições de secagem em relação ao perfil fitocanabinoide. No estudo realizado foi armazenado folhas secas de Cannabis a 65, 85 e 105 °C por 1, 4, 16 e 64 horas para comparar a porcentagem média do conteúdo total de fitocanabinoides. A porcentagem de fitocanabinoides totais diminuiu com o aumento do tempo e da temperatura e a porcentagem média de concentração dos

fitocanabinoides totais aumentou de 7,5% a 65°C após 1 hora para 11% a 105 °C após 64 horas⁴⁷.

A temperatura pode apresentar efeitos na qualidade do produto em relação à concentração de fitocanabinoides e terpenos. Challa, (2020) realizou experimentos com inflorescências frescas de cânhamo colhidos no Canadá e avaliou diversos aspectos de qualidade em relação a dois tipos de processos de secagem, isotérmica e não isotérmica e por liofilização. Verificou que quando a secagem ocorre pelo processo com temperatura não há um efeito negativo no conteúdo total de CBD (CBD + CBDA), sendo que o teor de CBD é máximo a 70 °C e mínimo a 50 °C em isotérmico convectivo (utilização de equipamento desidratador). Porém a análise da concentração do CBD isolado mostrou que a descarboxilação ocorreu durante o aumento da temperatura e teve o pico máximo em 70 °C. A secagem não isotérmica apresentou a concentração máxima de CBD + CBDA entre 40 °C e 70 °C tendo alterações quando o teor de umidade era alterado para 25%. Em contrapartida, a liofilização demonstrou ser um processo de secagem que proporciona pouca concentração final de CBD + CBDA e CBD isolado²¹.

3. Diversas técnicas de extração para fitoterápicos podem ser aplicadas com a biomassa da *Cannabis sativa* e cada processo possui vantagens e desvantagens que precisam ser analisadas conforme o objetivo farmacológico e comercial dos produtos desenvolvidos.

A técnica mais conhecida que pode ser empregada é a extração por maceração com imersão em solvente. As inflorescências são moídas e emergidas em solventes orgânicos, por longo período e em temperatura ambiente. Para aumentar a eficiência da extração pode ser adicionada temperatura e troca de solventes, conhecido como remaceração. Especificamente para a *Cannabis* a temperatura utilizada é de 40°C a 80 °C, por um tempo de imersão de 30 a 90 min. A maceração dinâmica com etanol por 45 min em temperatura ambiente é o melhor processo para extrair fitocanabinoides não psicoativos, especialmente as formas ácidas já que não há temperatura no processo e não ocorre a descarboxilação. O solvente mais seguro e eficaz para essa técnica é o etanol, quando comparado com n-hexano, acetona, metanol, devido à polaridade dos fitocanabinoides^{53;56}.

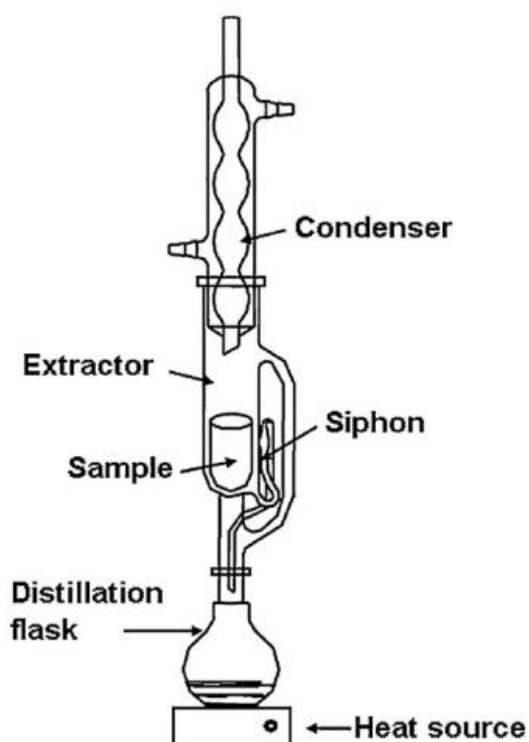
Um ponto importante nesse processo é a proporção de *Cannabis* e solvente. De acordo com a Farmacopeia Alemã a proporção é de 1g de amostra de *Cannabis*

para 100 ml de solvente. Caso seja utilizado quantidade menor de solvente o rendimento da extração pode diminuir, impactando no volume final esperado⁵⁶.

Extração por Soxhlet também pode ser utilizada para extrair fitocanabinoides. Normalmente esse tipo de extração é empregado apenas para pequenas e médias escalas de produção⁴⁷.

Neste processo a amostra sólida é colocada em um filtro de papel na parte superior do Soxhlet e o solvente, que está no balão, é continuamente aquecido, condensando e preenchendo a parte superior, Figura 12. Após alcançar determinado volume, a solução com os componentes dissolvidos retorna para o balão para que o processo seja repetido até o princípio ativo ser totalmente extraído da amostra sólida, restando um concentrado no balão. As principais vantagens de utilizar a extração por Soxhlet é devido, principalmente, ao constante contato da amostra com o solvente, além de ser uma técnica simples^{57;58}.

Figura 12. Extrator Soxhlet convencional.



Fonte: DE CASTRO, CAPOTE, 2010.

Quando a extração por Soxhlet é feita com heptano como solvente e associado a uma posterior extração com dióxido de carbono supercrítico, pode resultar em um

rendimento de quantidades significativas de moléculas lipofílicas de alto valor como ácidos graxos, álcoois graxos, aldeídos graxos, hidrocarbonetos, esteróis, triterpenoides e fitocanabinóides. Attarda *et al.* (2018) relataram que neste processo aproximadamente 5832,5 µg de CBD/g de pó de cânhamo são gerados^{54;59}.

A extração de longa duração em Soxhlet aumenta de forma significativa a concentração de $\Delta 9$ -THC e diminui a de $\Delta 9$ -THCA. Essa variação de concentração é natural devido à descarboxilação do $\Delta 9$ -THCA em $\Delta 9$ -THC, ou seja, quanto maior o aquecimento do extrator no equipamento Soxhlet, maior a quantidade de $\Delta 9$ -THCA transformado em $\Delta 9$ -THC⁶⁰.

Algumas técnicas utilizadas para a secagem por separação do solvente de fitoquímicos demonstraram extensa perda de compostos ativos quando aplicados na Cannabis. Namdar *et al.*, (2018), demonstraram que a secagem por speedvac, aparelho que utiliza a centrifugação, vácuo e calor para remover solventes e concentrar amostras, e evaporador rotativo degradam monoterpenos a níveis quase indetectáveis e alteram em pelo menos metade a concentração de sesquiterpenos. Já o método de secagem da amostra sob uma corrente muito suave de nitrogênio causa menos danos aos fitocanabinoides e terpenoides, mantendo as concentrações de monoterpenos e sesquiterpenos intactas. Outro ponto importante notado no processo de secagem pelo processo speedvac foi a redução de $\Delta 9$ -THC e canabigerol (CBG) para apenas dois terços da quantidade inicial⁵⁰.

A extração a seco também pode ser utilizada, e como não tem o uso de solventes a extração acontece através de atrito físico dos tricomas até que se desprendam da planta. É um dos métodos mais antigos e apresenta extratos com a mesma ou maior qualidade que os processos de extração mais atuais. A técnica conhecida como “kief” consiste em peneirar os tricomas já soltos em malha de micragem de 55 e 110 µm (os tricomas possuem tamanho entre 50 e 140 µm, podendo variar dependendo da variedade e do nível de maturação da planta). O pó produzido, conforme demonstrado na Figura 13, pode ser prensado em haxixe ou misturado com flores secas e tem uma potência de aproximadamente 35-50% de $\Delta 9$ -THC, porém devido ao tempo necessário para realização não é uma opção a nível industrial⁴⁷. O objetivo da extração a seco é oxidar a clorofila em diterpeno fitol e reduzir as chances de formação de mofo. Durante o processo, as moléculas voláteis como monoterpenóides de menor peso molecular, são evaporados, variando de 31 a 55,2% quando secos à temperatura ambiente⁵⁵.

Figura 13. Amostras do pó resultante da extração “kief”.



Fonte: RUSSO, PLUMB, WHITELEY, 2021.

O atrito físico com uso de gelo seco também é utilizado na extração conhecida como “bubble hash”. O contato dos tricomas com o gelo seco os fragiliza e através da agitação mecânica são separados. Após a filtragem da mistura, a massa úmida e fria é o extrato concentrado. Quando comparado com a extração por solvente, a “bubble hash” tem um rendimento maior em relação ao tempo, cerca de 8 minutos quando comparado com 100 minutos para extração alcoólica⁴⁷.

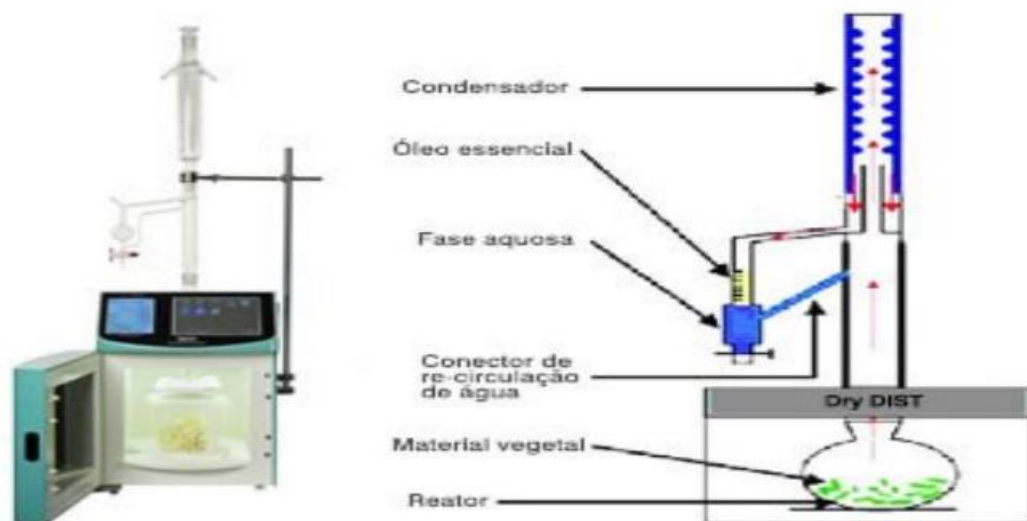
Técnicas mais consideradas rápidas, simples e inovadoras são uma opção para a extração dos compostos presentes na Cannabis e o ultrassom e a micro-ondas (MAE) possuem essas características⁶¹.

Extração assistida por micro-ondas (MAE) é uma técnica inovadora utilizada na extração dos fitocanabinoides e envolve o uso de radiação de micro-ondas para aquecer o solvente que está em contato com a amostra, dissolvendo os fitocanabinoides que estão na matriz vegetal⁶². O aquecimento da água presente nas células vegetais causa a ruptura da célula e evaporação dos componentes voláteis. O conteúdo extraído entrará em contato com o condensador, retornará ao estado líquido ficando sob a água já condensada, então a água será refluxada novamente para o material vegetal auxiliando o contínuo aquecimento da amostra aumentando a taxa de extração⁵⁷.

A MAE é mais rápida do que as extrações tradicionais, como Soxhlet ou destilação a vapor, e fornece alta eficiência com consumo razoável de solvente e aumenta o nível de pureza do componente extraído pela redução de reações indesejáveis quando comparado com métodos de aquecimento convencionais^{62:57}.

A extração por micro-ondas pode ser usada em conjunto com extração por solvente, extração Soxhlet e destilação conforme demonstrado na Figura 14. Os custos do processo são mais baixos do que a maioria das técnicas de extração convencionais e a extração assistida por micro-ondas é a única técnica que pode ser usada sem qualquer solvente. Os óleos essenciais extraídos por extração assistida por micro-ondas sem solvente não apresentam diferenças significativas na concentração ou perfil aromático quando comparado com a extração por destilação, e o tempo de extração por micro-ondas sem solvente é mais curto (30 minutos) do que a destilação convencional (4,5 horas)⁴⁹.

Figura 14. Destilação por micro-ondas em conjunto com destilação a pressão atmosférica.

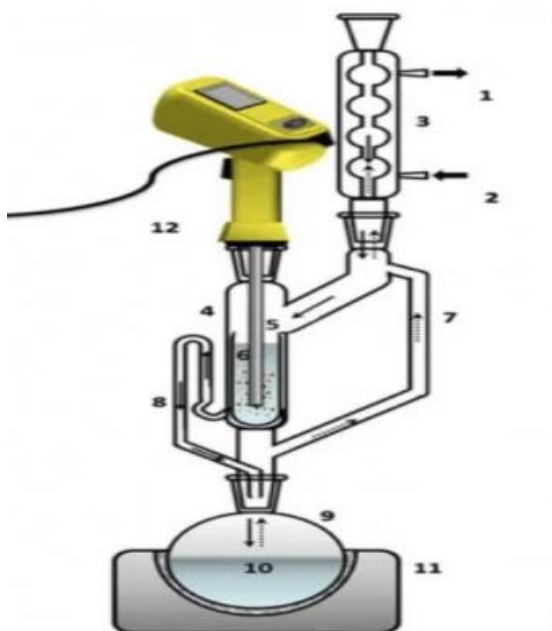


Fonte: LEMES, 2018.

Utilizando metanol a 109 °C com potência de micro-ondas de 375 W foram alcançados os maiores rendimentos de extração de fitocanabinoides totais no cânhamo em comparação com os métodos de extração tradicionais, porém as formas descarboxiladas foram elevadas devido aumento da temperatura gerado⁴⁹.

Alguns estudos estão avaliando a extração de ultrassom focalizada, conhecida como FUSE, que fornece potência de irradiação na ponta da sonda de titânio ou de vidro que está imersa na solução da amostra, Figura 15. O estudo realizado por Omar, *et al*, 2013, compararam os métodos FUSE e fluido supercrítico em relação à eficiência de extração e com base nos resultados obtidos observou que FUSE extrai 80% dos fitocanabinoides na primeira extração, sendo que através da SFE, entre 60 e 70% dos fitocanabinoides são encontrados na primeira extração e menos de 40% na quarta extração; porém essa baixa extração observada no SFE pode ser corrigida através da adição de um co-solvente, o etanol. Apesar da elevada extração que o método FUSE proporciona, ele não permite a separação dos fitocanabinoides e terpenos, sendo um ponto de observação que deve ser analisado dependendo do objetivo final da extração⁶³.

Figura 15. Representação da extração de ultrassom focalizada.



Fonte: LEMES, 2018.

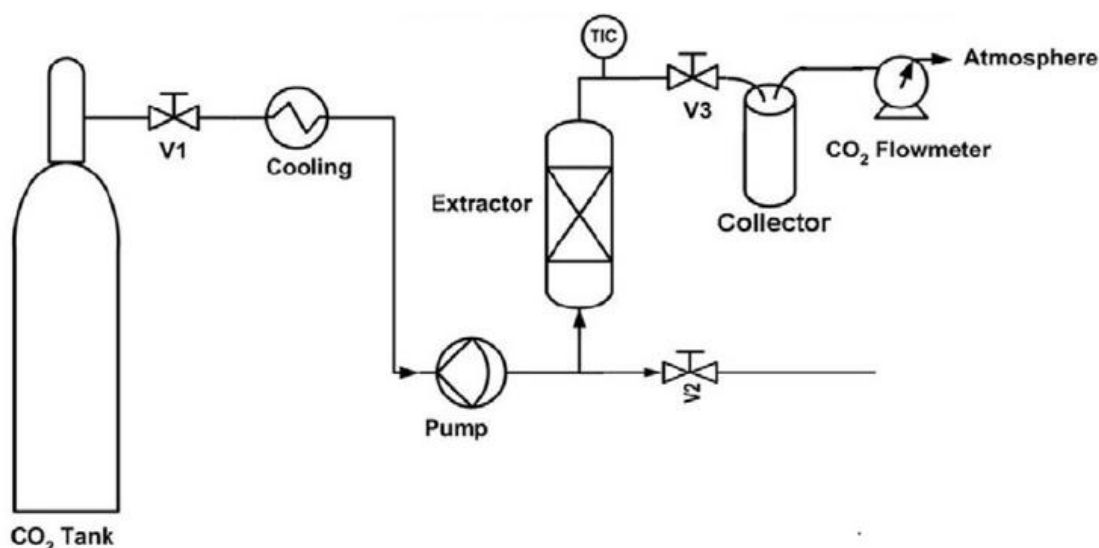
Esmaeilzadeh e Dehghan (2020), realizaram um estudo para avaliar a estabilidade oxidativa do óleo de semente de cânhamo para aumentar a eficiência da extração do óleo através do uso de ultrassom, demonstrando ser eficaz e confiável. O aumento da temperatura durante o processo levou a um aumento da eficiência de extração de óleo, teores fenólicos e eliminação de radicais⁶¹.

Quando o objetivo é uma extração conjunta de terpenos, o método mais apropriado é a extração por fluido supercrítico (SFE) já que garante condições estáveis de temperatura e preserva tanto fitocanabinoides como terpenos⁶³.

A maior limitação para o uso da extração por fluido supercrítico é o alto custo da instalação do equipamento⁵⁴.

Durante a extração por SFE um extrator é alimentado com a amostra que será aquecida até determinada temperatura e então o CO₂ pressurizado flui através da amostra dissolvendo o extrato solúvel que segue até uma válvula que irá liberar a pressão gerada, conforme apresentado na Figura 16⁶⁴.

Figura 16. Representação da extração por fluido supercrítico.



Fonte: RAMIREZ, FANOVICH, CHURIO, 2019.

Em relação aos parâmetros solubilidade, pressão e temperatura, através de métodos analíticos e diversos testes foi possível verificar que existe uma ordem crescente de solubilidade na temperatura de 326K com pressão entre 13,2 e 25,1 MPa: $\Delta 9\text{-THC} < \text{CBG} < \text{CBD} < \text{CBN}$, sendo que a solubilidade aumenta para as moléculas $\Delta 9\text{-THC}$ e CBD conforme aumento da pressão, permitindo o fracionamento durante o processo. Além de verificar essa relação entre estes parâmetros e os fitocanabinoides, também foi relatado que os terpenos atingem a solubilidade máxima em pressões mais baixas que os fitocanabinoides, favorecendo também o fracionamento dos mesmos⁵⁴.

Os fitocanabinoides neutros são de natureza apolar de alto peso molecular, portanto solúveis em CO₂ supercrítico, porém os fitocanabinoides ácidos, de maior interesse farmacológico, possuem natureza polar necessitando que seja adicionado um cossolvente ao processo para que a extração ocorra. Como essa adição acontece em pequenas quantidades a vantagem de ser um processo livre de solventes orgânicos permanece já que o cossolvente será evaporado na saída do extrator. Os cossolventes mais utilizados são etanol, acetato de etila e diclorometano⁶⁵.

Patentes relacionadas à extração de fitocanabinoides por fluido supercrítico foram registradas e demonstram o processo com variações de temperatura e pressão. Em 2008 uma patente foi registrada descrevendo o método de extração, Esquema 1, através de uma sequência de processos⁵⁴:

- 1) aquecimento para descarboxilar as formas ácidas dos fitocanabinoides até que espécies neutras sejam obtidas em 100–150 °C;
- 2) extração com CO₂ de um pó grosso compactado a 600 bar e 35 °C durante 4h (outras combinações de temperatura e pressão, entre 10° e 35 °C e 60 - 600bar, podem ser usados);
- 3) finalização com precipitação etanólica a -20 °C por 24h e remoção do material ceroso por filtração.

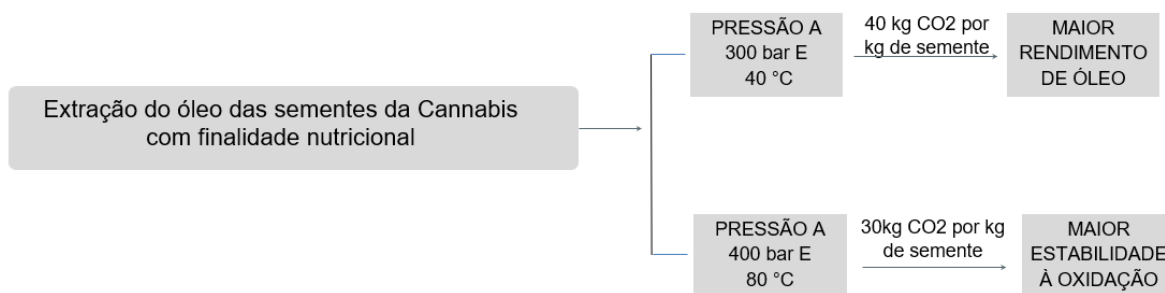
Diversos estudos descrevem resultados positivos em relação ao uso do CO₂ supercrítico para a extração do óleo das sementes da Cannabis com finalidade nutricional. Um desses estudos realizados foi comparativo entre duas condições de extração: pressão a 300 bar e 40 °C e pressão a 400 bar e 80 °C com uma razão de solvente de 40 kg CO₂ por kg de semente. A extração a 300 bar demonstrou ser mais eficaz no rendimento de óleo, enquanto a 400 bar, 80 °C, e uma razão de solvente de 30kg CO₂ por kg de semente, observou-se maior estabilidade à oxidação (representação do processo no Esquema 2). Nessas condições de operação, o óleo extraído por CO₂ supercrítico extraído apresentou estar menos propenso aos efeitos da oxidação do que a outra amostra extraído com hexano⁶⁶.

Esquema 1. Representação do processo de patente do método de extração por fluido supercrítico.



Fonte: DA PORTO, 2012.

Esquema 2. Representação do processo de extração por fluido supercrítico do óleo das sementes da Cannabis com finalidade nutricional.



Fonte: DA PORTO, 2012.

Rovetto e Aieta, (2017) investigaram a concentração de fitocanabinoides de extratos de *Cannabis sativa* L., o rendimento do processo sob diferentes condições de extração supercrítica com dióxido de carbono e o efeito do etanol como cossolvente. As extrações foram realizadas com aumento de pressão em vários estágios com pressão constante de 17, 24 e 34 MPa a 328K, com uma taxa de fluxo de 200g/min de CO₂. Nessas condições a taxa de extração aumenta com a pressão e os melhores resultados são obtidos a 34 MPa e 328K se nenhum cossolvente for utilizado. As concentrações dos fitocanabinoides Δ9-THC e Δ9-THCA nos vasos de coleta e variações ao longo do processo de extração com sc-CO₂ foram observadas indicando que mais de 60% da massa total acumulada foi recuperada do primeiro separador e que os extratos resultantes apresentaram distribuições de perfis de fitocanabinoides semelhantes. O etanol como cossolvente teve o objetivo de modificar a polaridade do solvente e melhorar o processo de extração para obter bons rendimentos⁶⁷.

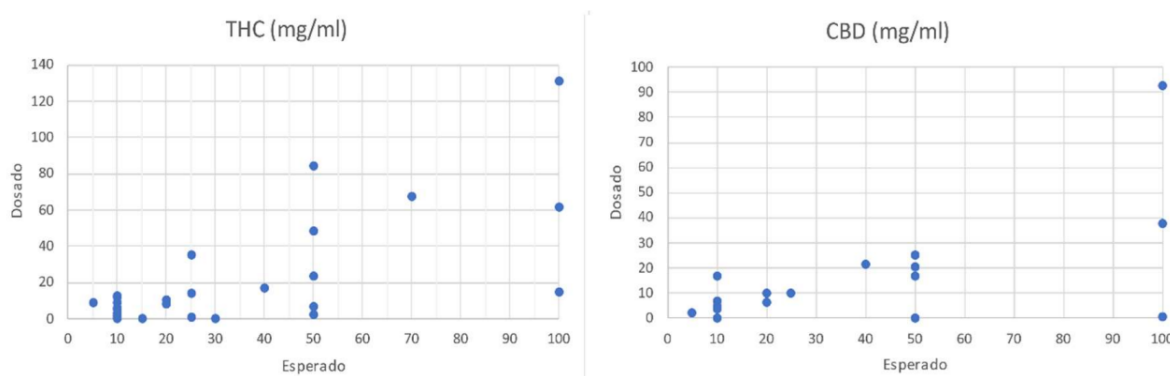
Brighenti, *et al.* (2017) analisaram quantitativamente através de HPLC, extratos de cânhamo extraídos através de quatro técnicas de extração, maceração dinâmica, extração assistida por ultrassom, extração assistida por micro-ondas e extração com fluido supercrítico, técnicas citadas neste trabalho⁵⁶.

Extração por ultrassom e fluido supercrítico obtiveram alta concentração de CBDA, enquanto maceração extraiu maior concentração de CBD e micro-ondas foi responsável pela maior concentração de CBD. Sendo assim a maceração dinâmica por 45 minutos, utilizando etanol à temperatura ambiente como solvente demonstrou ser a técnica mais adequada para a extração de fitocanabinoides em amostras de cânhamo. A diferença de concentração para a extração de CBDA e CBD entre a maceração dinâmica e a micro-ondas pode ser explicada pois a extração por micro-ondas necessita de maior tempo de extração, sendo essa afirmativa visualizada devido igualdade de proporção de aumento e diminuição das concentrações de CBD e CBDA que ocorreu pela descarboxilação do fitocanabinoide neutro na molécula descarboxilada, CBD⁵⁶.

4. A produção artesanal através do auto cultivo que alguns pacientes são autorizados a realizar fornece autonomia, diminui custos, porém proporciona variações de qualidade dos produtos, sendo necessário, também, a padronização dos métodos de extração por parte de quem os realiza¹⁰.

Costa (2022) analisou 41 extratos oleosos de *Cannabis sativa* sendo 32 produzidos por associações brasileiras de Cannabis medicinal e nove extratos produzidos pelos próprios pacientes através de métodos de extração que não foram relatados. Os extratos ricos em Δ 9-THC apresentaram mediana de 51% de concentração de Δ 9-THC menor em relação aos valores esperados e os extratos ricos em CBD, apresentaram mediana de 58% de concentração de CBD menor do que o esperado. Os resultados obtidos em relação à proporção de Δ 9-THC e CBD dosado e esperado estão na Figura 17⁴⁵.

Figura 17. Concentração de Δ^9 -THC e CBD dosado e esperado em extratos oleosos de *Cannabis sativa* produzidos por associações brasileiras e por pacientes.



Fonte: DA COSTA, 2022.

Outros estudos avaliaram a concentração de fitocanabinoides em extratos artesanais e relataram concentrações menores do que o esperado, principalmente de CBD e até mesmo sem fitocanabinoides. Quando amostras de extratos artesanais e produzidos por associações são avaliados de forma comparativa observa-se maiores concentrações de Δ^9 -THC nos extratos produzidos por associações em relação aos produzidos pelos próprios pacientes. A justificativa para esse fato pode estar relacionada à qualidade da matéria prima, planta *Cannabis sativa*, e à técnica de extração utilizada⁴⁵.

A extração por maceração com imersão em solvente é a técnica mais conhecida para fitocanabinoides e passível de uso para extrações caseiras. Quando combinada com óleos vegetais (azeite ou óleo de coco) como solventes extratores, os riscos de inflamabilidade ou intoxicação não existem e a extração ocorre de forma mais limpa e fácil em relação aos outros métodos. O resultado é um óleo saturado com fitocanabinoides, que pode ser usado diretamente na sua forma concentrada ou para preparo de formulações tópicas. O uso de óleos vegetais, como azeite de oliva e óleo de coco preserva os terpenos pois não ocorre evaporação sob aquecimento prolongado. Porém devido a não evaporação há dificuldade em purificar os extratos já que a separação do óleo e dos metabólitos secundários fica prejudicada⁶⁸.

Romano e Hazekamp, (2013) realizaram 5 protocolos de extração de fitocanabinoides e em um destes utilizou azeite como solvente. Para 10 g de matéria vegetal e 100 ml de azeite de oliva, sob aquecimento em banho maria a 98°C por 120 min, a concentração final de fitocanabinoides no extrato foi de 2,5 mg/ml

(representação do processo no Esquema 3). Também, foi realizada extração com etanol que demonstrou ter ótimo desempenho por extrair todos os terpenos e fitocanabinoides. Um ponto de atenção é que o etanol puro extrai facilmente a clorofila, tornando o extrato final com coloração verde e sabor desagradável²³.

Esquema 3. Representação da extração de fitocanabinoides em extração caseira.



Fonte: ROMANO, HAZEKAMP, 2013.

Para a extração por maceração com solvente o uso do azeite é considerado uma opção principalmente para o auto cultivo, principalmente por ter seu custo reduzido em relação aos demais solventes, não é inflamável, não é tóxico e o aquecimento precisa ocorrer somente até o ponto de ebulição da água. Porém como não há concentração dos fitocanabinoides através da evaporação os pacientes precisam consumir um volume maior do óleo para obter os mesmos efeitos terapêuticos⁶⁸.

O uso do hexano como solvente também é uma opção para a extração de fitocanabinoides. O produto desta extração terá menos subprodutos como flavonoides, alcaloides e clorofila e a maior lipossolubilidade possibilita a extração do material ceroso dos tricomas que pode causar o entupimento da coluna cromatográfica. Em contraponto a esses benefícios, o hexano é usado na indústria para a cristalização do CBD, diminuindo a solubilidade e causando precipitações que podem diminuir a concentração final, permitindo a importação/exportação de produtos com níveis de fitocanabinoides fora do limite permitido⁵⁶.

5.4 Métodos de quantificação dos fitocanabinoides e terpenos da *Cannabis sativa*

1. Após todos os processos citados acima, é necessário identificar e quantificar as moléculas extraídas. Diversos métodos podem ser aplicados para realizar a identificação do perfil de fitocanabinoides presentes em uma amostra e a escolha deve ser feita levando em consideração as características químicas das moléculas da amostra.

A cromatografia em camada delgada (CCD) é um método muito utilizado na identificação de fitocanabinoides de amostras com a finalidade de controle de entorpecentes e as técnicas mais modernas de CCD por serem automatizadas são mais confiáveis e baratas, podendo substituir métodos mais custosos para os laboratórios^{69,70}. Porém, esse método está sujeito a interferências relacionadas a resolução dos analitos que são estruturalmente semelhantes, podendo não ser alcançada devido às limitações de modo de eluição (isocrático) e às características da fase estacionária⁴⁰. Essas limitações podem ser resolvidas com a utilização da cromatografia em camada delgada de alta eficiência (HPTLC), que consiste em utilizar fases estacionárias com menor espessura (<150µm) e tamanho de partícula reduzido (<10µm), além do uso de instrumentos que permitem a automatização de etapas analíticas como aplicação de amostra, eluição e detecção⁶⁸.

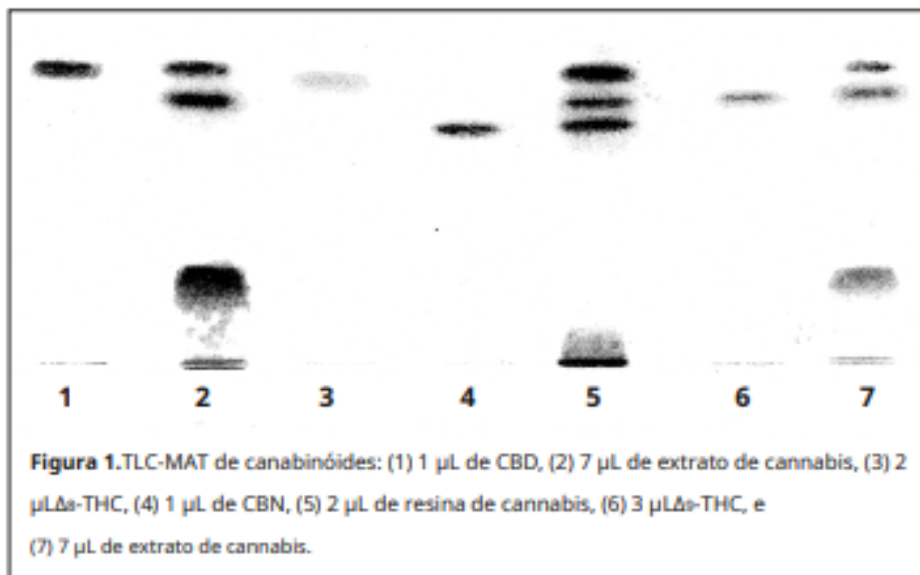
A Seção de Laboratório e Assuntos Científicos do Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime padronizou uma metodologia em relação ao sistema de solventes para a identificação dos fitocanabinoides neutros, fitocanabinoides ácidos e Δ^9 -THC encontrados em entorpecentes que pode ser replicado para a identificação em amostras de óleos de extratos de Cannabis. É importante ressaltar que solventes apolares, como n-hexano e éter de petróleo, resultarão em um extrato mais puro, mas extrairá apenas os fitocanabinoides neutros e os outros menos apolares, com algumas combinações, irão extrair os fitocanabinoides ácidos. O Manual da Seção de Laboratório e Assuntos Científicos do Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime, sugere 3 sistemas de solventes que favorecem a extração de fitocanabinoides neutros e ácidos: (1) éter de petróleo 60/90 - 80% v/v + éter dietílico - 20% v/v, (2) ciclohexano - 52% v/v + éter - 40% v/v + diisopropílico dietilamina - 8% v/v, (3) n-hexano - 70% v/v + dioxano - 20% v/v + metanol - 10% v/v⁷⁰.

Outros estudos utilizaram diversas misturas de eluentes e técnicas adicionais à cromatografia em camada delgada com o objetivo de analisar os resultados obtidos já que as semelhanças estruturais dos fitocanabinoides e os pesos moleculares semelhantes dificultam a identificação, além da CCD tradicional não separar de forma “limpa” as moléculas mais polares⁵⁴.

Galand, N. *et al.* (2004) realizou uma comparação de desempenho entre as técnicas cromatografia clássica em camada fina (TLC), OPLC (optimum performance laminar chromatography) e sistema de alta performance em camada delgada (AMD). A técnica OPLC permite a análise de grande quantidade de amostras em um tempo muito curto, podendo ser utilizado no modo semi-preparativo para purificar produtos por eluição direta devido ao fato de que a migração é uma correlação linear com o tempo. Os valores de R_f são reproduzíveis e cada composto é eluído em um tempo definido. Já o sistema de alta resolução (AMD) possui melhor resolução sem qualquer difusão pontual e sem oxidação porque a microcâmara está saturada com, por exemplo, metanol sob atmosfera de nitrogênio⁶⁹.

O melhor resultado de separação na cromatografia em camada delgada do estudo citado acima ocorreu com a técnica TLC com os eluentes hexano-éter dietílico (80:20, v/v), proporcionando separação mais “limpa” entre Δ^9 -THC e CBN, conforme demonstrado na Figura 18. Esta separação não é fácil de ser realizada devido à semelhança das estruturas químicas, além de os pesos moleculares de Δ^9 - Δ^9 -THC e CBD serem iguais (314,47), e o do CBN muito próximo (310,44)⁶⁹.

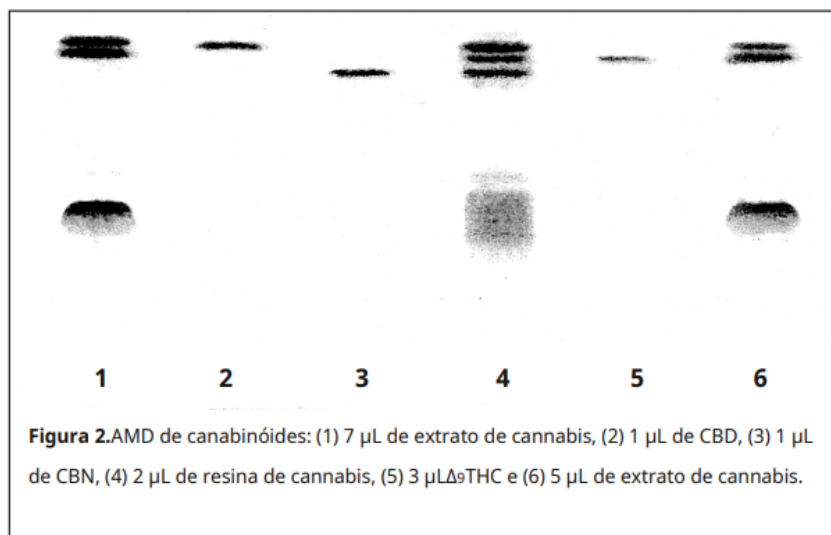
Figura 18. Eluição em cromatografia clássica em camada fina (TLC) com hexano-éter dietílico (80:20, v/v).



Fonte: GALAND, *et al.*, 2004.

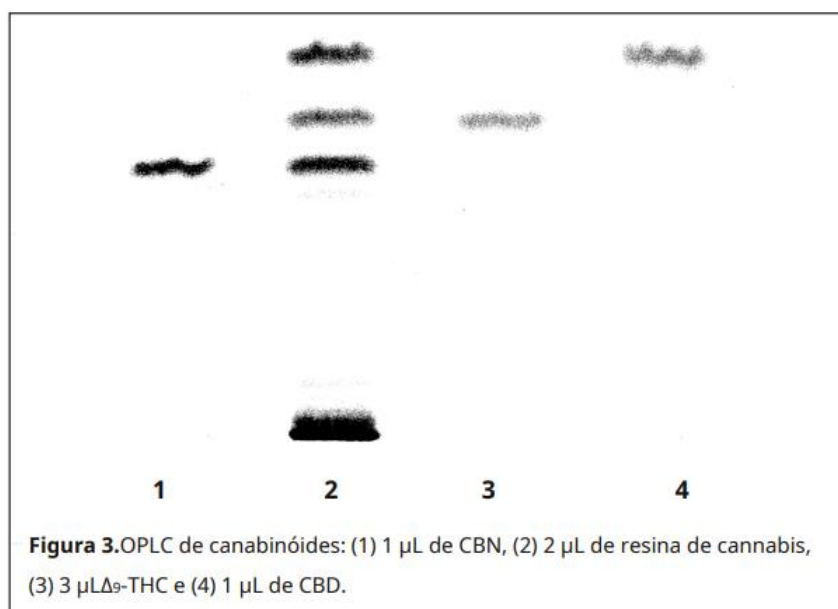
O sistema de alta performance em camada delgada (AMD) obteve a melhor separação das moléculas Δ9-THC, CBN e CBD com o gradiente de eluição acetona (100), éter diisopropílico (100), hexano (100), hexano (100) e hexano (100) com visualização através da pulverização do reagente Fast Blue Salt Reagent (Figura 19). A identificação ocorreu através tanto do fator de retenção como da coloração aparente na placa, roxo para Δ9-THC, vermelho-alaranjado para CBD e violeta para CBN. A OLPC precisou de ajustes devido à viscosidade dos eluentes, e o hexano foi substituído pelo isoctano que forneceu a melhor separação na proporção isoctano-éter dietílico (90:10, v/v), conforme demonstrado na Figura 20⁶⁹. É importante ressaltar que o reagente Fast Blue Salt, específico para fitocanabinoides requer cuidados adicionais devido à sua toxicidade e potencial carcinogênico⁶⁸.

Figura 19. Eluição no sistema de alta performance em camada delgada (AMD) com o gradiente de eluição acetona (100), éter diisopropílico (100), hexano (100), hexano (100) e hexano (100) e pulverização do reagente Fast Blue Salt Reagent.



Fonte: GALAND, *et al.*, 2004.

Figura 20. Eluição em OPLC (optimum performance laminar chromatography) com os efluentes isoctano e isoctano-éter dietílico (90:10, v/v).



Fonte: GALAND, *et al.*, 2004.

A Farmacopeia Alemã recomenda o uso da cromatografia em camada delgada com fase reversa (C-18) com revelação por Vanilina sulfúrica SR, sendo que para a droga vegetal é necessário a utilização apenas o uso de padrões de referência de

CBD e Δ^9 -THCA. Quando a identificação for realizada com extratos de *Cannabis sativa* é preconizada a utilização de soluções de referência de CBN, CBD e Δ^9 -THC⁶⁸.

Abaixo é apresentado na Tabela 3 os métodos analíticos para quantificação de fitocanabinoides pelo método cromatografia em camada delgada⁶⁸.

Tabela 3. Métodos analíticos para quantificação de fitocanabinoides pelo método cromatografia em camada delgada.

Fase móvel	Fase estacionária	Revelador	Analitos/padrões ²
Metanol:água:ácido acético 99% (70:15:15)	C-18	Vanilina sulfúrica SR	Canabinoides/CBD/ Δ^9 -THC
Metanol:água:ácido acético 99% (80:10:10)	C-18	Vanilina sulfúrica SR	Canabinoides/CBD/ Δ^9 -THC
Metanol:ácido acético 0,1%(75:15)	C-18	Vanilina sulfúrica SR Fast Blue B	CBC/ Δ^9 -THC/CBN/ CBG/CBD/THCV/THCA/ CBDA
Éter de petróleo 60/90: éter etílico (80:20)	Sílica gel 60	Fast blue B ¹	CBN/ Δ^9 -THC/CBD/THCA/CBDA
Ciclohexano:éter isopropílico:diethylamina (52:40:8)	Sílica gel 60	Fast blue B ¹	CBN/ Δ^9 -THC/CBD/THCA
Hexano:dioxana:metanol (70:20:10)	Sílica gel 60	Fast blue B ¹	CBN/ Δ^9 -THC/CBD/THCA
Hexano:éter etílico (80:20); Hexano:dioxana (90:10)	Sílica gel 60	Fast blue B	Canabinoides/timol (1mg/ml)/ Δ^9 -THC (200 µg/mL)
Clorofórmio	Sílica gel 60 (HPTLC)	Fast blue B	CBD/ Δ^9 -THC/ Δ^8 -THC/CBN/ THCV/CBG/CBC
A) Metanol:ácido acético (19:1) B) Clorofórmio:metanol (19:1)	A) C-18 B) Sílica gel 60 (F254)	Anisaldeído; Fast Blue B + MaOH; UV 254 nm	CBDA/CBGA/CBG/CBD/CBN/ Δ^9 - THC/ Δ^8 -THC/THCA/CBC/CBCA
Heptano:éter etílico:ácido fórmico (75:25:0,3)	Sílica gel 60 (HPTLC)	Fast blue B	CBN/ Δ^9 -THC/CBD/THCA
Tolueno: acetato de etila (95:5)	Sílica gel 60	Anisaldeído	Terpenoides/linalol/mirceno
Ciclohexano:acetona (1:1)	Sílica gel 60	Vanilina SR	Terpenoides

¹O volume de aplicação é dependente das concentrações das soluções dos padrões e amostras, sendo que a maioria das referências preconiza a aplicação de volumes da ordem de 5µL.

² 50 mg em 20 ml de NaOH 0.1 N ou em 1 ml de água + 20 ml de metanol (adicionados em seguida)

Adaptado de: DE SOUZA, 2022.

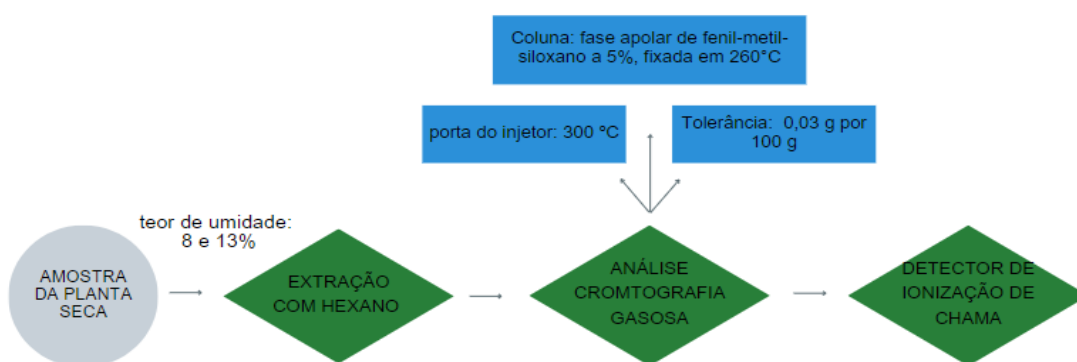
2. A cromatografia gasosa é uma técnica muito utilizada para análise de matrizes biológicas e extratos vegetais pela alta taxa de confiabilidade para quantificações precisas através do uso de padrões puros para calibração e detecção de ionização de chama ou espectrometria de massa. A CG é utilizada desde 1963 em experimentos com colunas apolares de borracha de

goma de silicone SE-30 que não apresentaram boa resolução para separação de fitocanabinóides⁵⁴.

Uma das principais desvantagens associadas à determinação de fitocanabinoides com CG está relacionada com a temperatura da porta do injetor que realiza a mistura antes da separação cromatográfica e então ocorre a descarboxilação parcial para a forma ácida, sendo necessário a etapa de derivatização⁷¹. A CG é um método bem estabelecido, já que a etapa da derivatização soluciona este problema⁶⁹.

A Comissão Europeia estabeleceu a cromatografia gasosa como um método oficial para determinar o teor de Δ^9 -THC. De acordo com o estabelecido, determinada quantidade de amostra de planta seca, com teor de umidade entre 8 e 13% é extraída com hexano e analisada por cromatografia gasosa/detector de ionização de chama (GC-FID). A porta do injetor deve estar configurada para 300 °C e a coluna, impregnada com uma fase apolar de fenil-metil-siloxano a 5% é fixada em 260°C. A tolerância para os resultados é de 0,03 g por 100 g, equivalente a 0,3% permitidos em diversos países (representação do processo no Esquema 4.). Através dessa metodologia ocorre a evaporação completa do solvente, e evita a perda de amostra durante a injeção⁷².

Esquema 4. Representação do processo oficial de quantificação para determinar o teor de Δ^9 -THC por cromatografia gasosa de acordo com a Comissão Europeia.

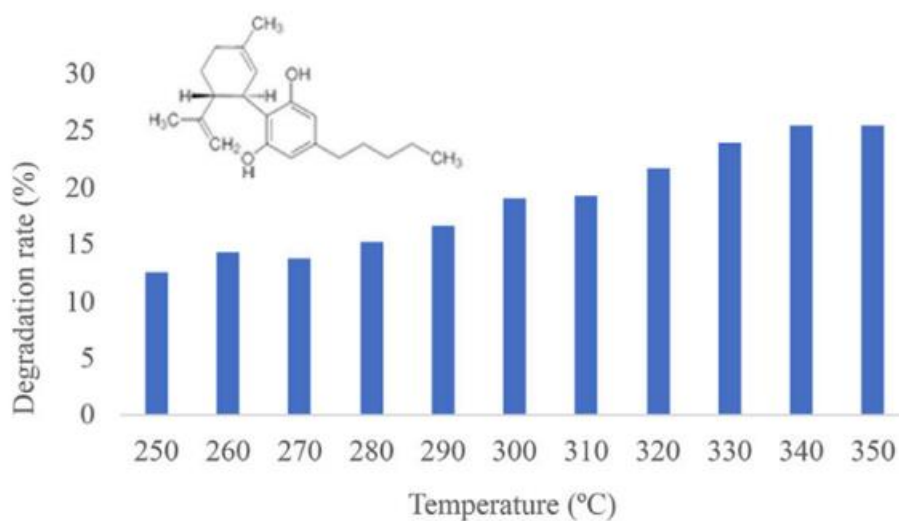


Fonte: GARCÍA-VALVERDE, *et al.* 2022.

Como citado anteriormente, há influência da temperatura de entrada do CG na degradação de muitos analitos e avaliar a termolabilidade do composto pode ser crítica no processo. Conforme ocorre aumento da temperatura há ligeiro declínio na concentração de CBD, portanto a degradação gradual do CBD com a temperatura

gera uma redução de até 20% da concentração inicial quando a temperatura do injetor é ajustada para 300 °C. García-Valverde (2022) demonstra que outros compostos aparecem gradualmente no cromatograma, conforme a temperatura aumenta. De acordo com espectros de massa e o tempo de retenção das moléculas, a conversão são produzidos durante a volatilização da amostra na porta do injetor, tanto para o CBD como para o do Δ^9 -THC que degrada em CBN e Δ^8 -THC. A Figura 21 apresenta a degradação do CBD gradual (%) com o surgimento de compostos fitocanabinoides considerados de degradação desta molécula (Δ^9 -THC, Δ^8 -THC e CBN)⁷².

Figura 21. Efeito da temperatura de entrada no CBD, taxa de degradação e concentração de CBD, Δ^9 -THC, Δ^8 -THC e CBN expressa em μ M.



Fonte: GARCÍA-VALVERDE, *et al.* 2022.

A Polícia Científica de Curitiba em parceria com a Universidade Estadual de Maringá, realizaram análises da composição e do comportamento térmico da *Cannabis sativa* através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas com solvente polar e apolar. A coluna capilar tinha a dimensão de 30m x 0,25mm x 0,25mm e o gás de arraste utilizado foi o Hélio. O forno permaneceu na temperatura de 200 °C por 0,5 minuto, e após depois 40 °C/min até alcançar a temperatura de 230 °C e 30 °C/min até alcançar a temperatura de 290 °C, totalizando 4,75 minutos e os eluentes utilizados foram metanol e n-hexano. Após a análise dos

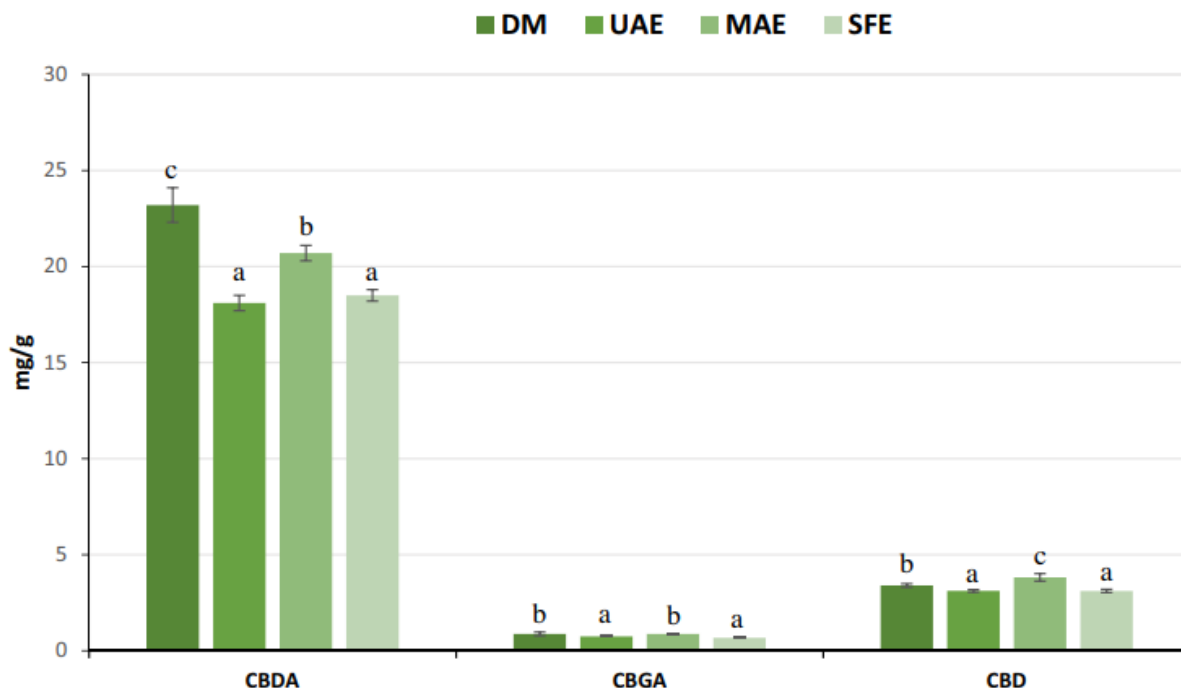
extratos foi possível verificar a necessidade da derivatização para quantificação exata dos fitocanabinoides ácidos e neutros⁶⁴.

3. O método mais completo e eficaz para identificação é o HPLC. Assim como todos os produtos de origem vegetal, a complexidade das moléculas da *Cannabis* necessita que seja realizada a otimização das condições de separação da amostra, permitindo que o HPLC seja a técnica frequentemente aplicada para a análise de compostos fenólicos em extratos vegetais. A extração por HPLC evita a decomposição da amostra, pois o processo é realizado a temperatura ambiente permitindo a análise direta dos fitocanabinoides ácidos na amostra extraída⁵⁶.

Brighenti *et al.* (2017) realizaram uma série de experimentos com variados tipos de extrações utilizando esta técnica para a identificação dos principais fitocanabinoides presentes na amostra de *Cannabis sativa L.* Um ponto importante dessa série de experimentos foi a padronização das condições para a análise. Como resultado dos experimentos, avaliaram que a cromatografia em coluna C18, com metanol, acetonitrila ou tamponado usado como eluente de solvente forte e ácido cítrico como o fraco, é uma excelente técnica para a análise de fitocanabinoides e que o uso de uma fase móvel ácida melhora o desempenho da separação, melhorando o formato de pico com uma resolução aprimorada, principalmente para os fitocanabinoides ácidos⁵⁶.

As técnicas de extração utilizadas nos experimentos foram maceração dinâmica, extração assistida por ultrassom, extração assistida por micro-ondas e extração com fluido supercrítico. A quantificação dos fitocanabinoides extraídos por todas as técnicas foram identificados por meio de HPLC, demonstrando que a melhor extração ocorreu por maceração dinâmica com etanol em temperatura ambiente por 15 minutos, conforme demonstrado na Figura 22⁵⁶.

Figura 22. Comparação do rendimento de extração (mg/g) das moléculas do cânhamo através de diferentes técnicas de extração. DM (maceração dinâmica), UEA (extração assistida por ultrassom), MAE (extração assistida por micro-ondas), SFE (extração com fluido supercrítico).



Fonte: BRIGHENTI, *et al.*, 2017.

Uma análise de amostra de medicamento a base de extrato de Cannabis com alta concentração de Δ^9 -THC extraído através de bubble hash foi realizada em três diferentes colunas de modo misto repletas de partículas de carbono/nano diamante/polímero de amina superficialmente porosas. As fases estacionárias eram compostas por uma fase reversa de troca aniônica fraca (C18), uma fase reversa de troca aniônica forte (amina quaternária) e uma fase de ligação HILIC. A coluna de modo misto de fase reversa (C18) com fases móveis ácidas reteve fortemente o Δ^9 -THCA, Δ^9 -THC na forma ácida. Em condições básicas e polares, o Δ^9 -THCA foi fortemente retido na coluna de modo misto de troca aniônica forte de fase reversa e a coluna HILIC com fases móveis básicas reteve fitocanabinoides polares mais fortemente do que os neutros⁵⁴.

Segundo Rovetto e Aieta, (2017), o rendimento da extração é altamente dependente da pressão e da composição inicial do material vegetal. A pressão mais alta oferece condição cinética mais eficiente para a extração dos fitocanabinoides com alta taxa de extração inicial, solubilidade aparente e rendimento total. No estudo

realizado os melhores resultados foram observados em 34 MPa e 328 K se nenhum cossolvente for utilizado⁶⁷.

5.5 Controle de qualidade

A partir da certificação das Boas Práticas de Fabricação da unidade fabril e dos parâmetros de qualidade, a RDC 327/2019, ANVISA, estabeleceu a categoria de “Produtos de Cannabis” e tornou possível a sua produção a partir obtenção da Autorização Sanitária de forma simplificada. Em complemento, o Guia de Estudo de Estabilidade nº28/2019, ANVISA, regulamentou a realização de estudos de estabilidade, que tem por objetivo selecionar formulações e embalagens adequadas que proporcionem a estabilidade do produto. Além disso, juntamente com os estudos de longa duração, ajudam a determinar a vida útil e as condições adequadas de armazenamento⁷³.

Se utilizando do estudo de estabilidade acelerada, Rastely (2016)⁷⁴, analisou amostras de extratos de *Cannabis sativa* armazenadas por 5 meses com temperaturas entre 5 °C e 25 °C, com e sem luz a LED. Os resultados deste estudo indicaram uma degradação gradual dos extratos com perdas de 34% de Δ 9-THC e 82% de CBD após cinco meses. As formas ácidas foram totalmente degradadas após três meses em todas as condições de armazenamento. A luz e a temperatura impactaram na degradação dos fitocanabinoides principalmente para o Δ 9-THC quando exposto à luz e a 25 °C. O CBD se degradou na ausência de luz e temperatura de 25 °C. A partir destes resultados houve a recomendação de que os extratos ricos em Δ 9-THC devem ser armazenados a baixas temperaturas e protegidos da luz, e os ricos em CBD armazenados a baixas temperaturas e com luz. Após o período de 150 dias de armazenamento, todos os extratos tiveram uma diminuição de 50% da concentração, necessitando de ajustes na dosagem. Outro ponto importante avaliado foi a estabilidade dos fitocanabinoides em função dos excipientes utilizados, azeite e triglicerídeos de cadeia média (MCT - tipo de óleo de coco livre de ácidos graxos de cadeia longa). Quando o excipiente utilizado foi o azeite, os extratos com concentrações semelhantes de Δ 9-THC e CBD, apresentaram maior degradação do Δ 9-THC. A maior proteção promovida pelo MCT, foi justificada pelo fato dele ser um

ácido graxo na forma de triacilglicerol, e quando oxidado liberou ácidos graxos livres, e forneceu maior proteção ao Δ^9 -THC⁵⁰.

Devido à complexidade molecular da Cannabis com variadas concentrações de fitocanabinoides é necessário analisar a identidade da cepa, composição quantitativa dos fitocanabinoides e se houve exposição mínima de contaminantes⁷⁴. Assim, além desses testes, o “Guia para a Condução de Estudos não Clínicos de Toxicologia e Segurança Farmacológica necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos”, aplicável a medicamentos fitoterápicos, também preconiza a necessidade de definir os parâmetros a serem seguidos para ensaios não clínicos e clínicos de segurança e eficácia⁷⁵.

Relatos de recalls devido à contaminação e rotulagem incorreta da composição dos fitocanabinoides em países onde a venda de produtos derivados de Cannabis é permitida, como Canadá e alguns estados dos Estados Unidos da América, mostram a necessidade de se que sejam estabelecidos os padrões de controle de qualidade dos produtos. Diante desse cenário, a FDA reforçou publicamente a necessidade de pesquisas para coletar dados sobre o uso médico seguro e eficaz de produtos à base de Cannabis na totalidade ou isolados. O controle da qualidade desses produtos precisa ser rigoroso e abranger atributos de qualidade como identidade, composição e pureza. Além disso, com definição das técnicas que serão utilizadas para prevenir danos ao paciente exposto a produtos de qualidade inferior, contaminados ou adulterados⁷⁴.

No Brasil, a RDC nº 660 de 30 de março de 2022 permite que pessoas físicas obtenham permissão individual para importação de produtos derivados de Cannabis para uso próprio, mediante prescrição. Os produtos importados além de apresentar custo elevado, muitos deles não são registrados como medicamentos nos países de origem. Desta forma, esses produtos não possuem garantias de que foram fabricados em conformidade com as Boas Práticas de Fabricação ou que tenham seus parâmetros relevantes de qualidade monitorados⁷⁶.

A grande disparidade entre as diretrizes adotadas pelos países proporciona desafios ao estabelecer especificações para os atributos de qualidade dos produtos derivados de Cannabis. Em consequência, além de não ser possível assegurar aos pacientes que deles fazem uso os efeitos terapêuticos esperados, também podem ser dispensados sem a avaliação da qualidade, segurança e eficácia pela autoridade sanitária competente, no caso do Brasil, a ANVISA⁴⁰. De acordo com De Souza,

2022⁵³, o uso da *Cannabis sativa* pode provocar diversos efeitos adversos como sonolência, tontura, desorientação, euforia e boca seca. Portanto, o perfil de segurança dos produtos desenvolvidos precisa de evidências sobre a qualidade e perfil de segurança. Aspectos como a definição de parâmetros adequados de identidade, teor e pureza são de extrema importância para prevenir os riscos associados à exposição dos pacientes a produtos de baixa qualidade, adulterados ou contaminados.

Conforme descrito na RDC 26/2014 da ANVISA⁷⁷, os extratos artesanais de *Cannabis sativa* são classificados como derivado vegetal, ou seja, produtos obtidos a partir da extração da planta medicinal fresca ou da droga vegetal, que contém as substâncias responsáveis pela ação terapêutica, podendo se apresentar nas formas de extrato, óleo fixo e volátil, cera, exsudato ou outras formas farmacêuticas. Quando o derivado vegetal for utilizado na fabricação do medicamento fitoterápico deve ser apresentado laudo de análise do derivado vegetal, indicando o método utilizado, especificação e resultados obtidos dos ensaios realizados para um lote do extrato. Os ensaios a serem realizados são:

- 1) Proporção dos solventes e excipientes utilizados na extração do derivado;
- 2) Definição da relação aproximada da droga vegetal/derivado vegetal;
- 3) Testes de pureza e integridade: determinação de metais pesados, determinação de resíduos de agrotóxicos e afins, determinação de resíduos de solventes (para extratos que não sejam obtidos com etanol e/ou água), determinação de contaminantes microbiológicos, determinação de micotoxinas quando houver relatos da contaminação da espécie por micotoxinas;
- 4) Método para eliminação de contaminantes, quando empregado, e a pesquisa de eventuais alterações;
- 5) Caracterização físico-química do derivado vegetal, incluindo a caracterização, resíduo seco, pH, teor alcoólico e densidade relativa para extratos fluidos;
- 6) Determinação de água, solubilidade e densidade aparente para extratos secos;

- 7) Determinação da densidade, índice de refração e rotação óptica para óleos essenciais e determinação do índice de acidez, de ésteres e de iodo para óleos fixos;
- 8) Perfil cromatográfico, acompanhado da respectiva imagem em arquivo eletrônico, com comparação que possa garantir a identidade do derivado vegetal;
- 9) Análise quantitativa dos marcadores ou controle biológico.

Complementando o monitoramento qualitativo do perfil de constituintes químicos para assegurar a autenticidade e pureza do material, outra importante análise necessária para o controle de qualidade de produtos de Cannabis trata dos aspectos morfológicos macroscópicos e microscópicos da planta. Para a classificação em taxonomia vegetal a estrutura floral da Cannabis é o principal elemento a ser analisado, e para a análise microscópica, a morfologia dos tricomas glandulares são elementos diagnósticos da espécie⁵³.

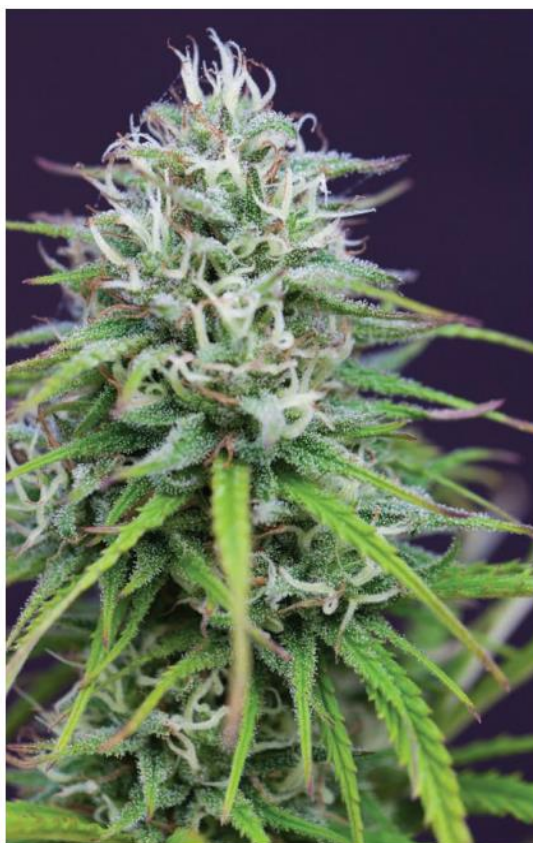
Na avaliação dos aspectos macroscópicos deve ser considerado que a Cannabis é uma herbácea anual, com uma raiz principal que se ramifica lateralmente com 30 a 40 cm de profundidade em solo e até 2,5 m de profundidade vertical. São dioicas (flores masculinas e femininas ocorrem em plantas separadas) e raramente monoicas (flores masculinas e femininas ocorrem na mesma planta). Outras características importantes que devem ser avaliadas são: tronco, folhas, folheto, inflorescências estaminadas masculinas, flores masculinas, inflorescências pistiladas femininas, flores femininas e aquênios. As folhas e inflorescências são a característica mais conhecida da Cannabis e de mais fácil visualização, com folhas contendo margens serrilhadas no formato finos a mais grossos, Figura 23. A inflorescência possui coloração verde, podendo ser roxo, vermelho e/ou manchado ou listrado. São densamente cobertas por tricomas capitados, com margens serrilhadas ou inteiras, Figura 24⁷⁸.

Figura 23. Folha da Cannabis.



Fonte: AMERICAN HERBAL PHARMACOPEIA, 2014.

Figura 24. Inflorescência da Cannabis.



Fonte: AMERICAN HERBAL PHARMACOPEIA, 2014.

Microscopicamente, a morfologia dos tricomas glandulares presentes nas brácteas e bractéolas é um dos principais elementos diagnósticos da espécie. Três tipos principais de tricomas glandulares podem ser observados: tricomas sésseis, tricomas glandulares bulbosos e tricomas pedunculados, sendo os glandulares e pedunculados os mais presentes nas inflorescências femininas⁵³.

Na proposta de desenvolvimento de monografia farmacopeica de inflorescências de *Cannabis sativa* L., De Souza (2022)⁵³, relatou as descrições das características macroscópicas e microscópicas relevantes para identificação da droga vegetal. As amostras utilizadas neste estudo foram disponibilizadas pela Polícia Federal do Rio Grande do Sul. Na análise macroscópica foi visualizado a forma, tamanho, cor, aspecto da superfície e textura da amostra como um todo. Para a análise microscópica, os materiais foram hidratados em água morna e após hidratação e amolecimento, foram realizados os cortes histológicos ou separação das estruturas de interesse. Abaixo segue as principais características macroscópicas e microscópicas observadas no estudo e que estão de acordo com as Farmacopeias existentes. As estruturas estão representadas na Figura 25⁵³.

A. Análise macroscópica:

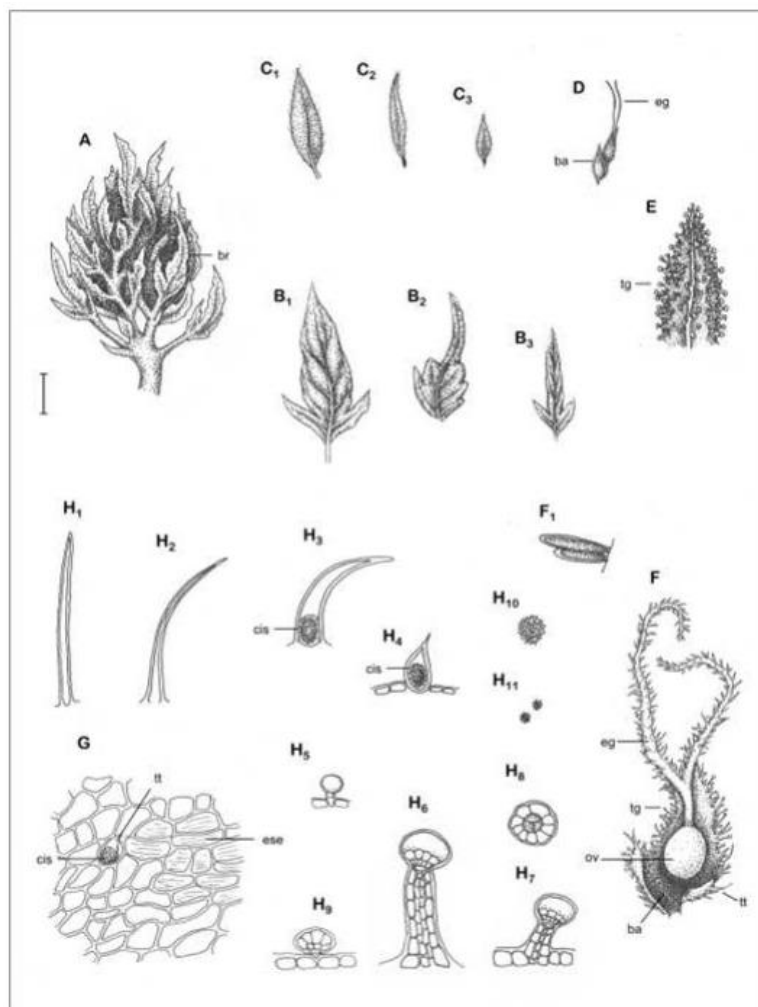
1. Inflorescências pistiladas secas: compactas, glomeruliformes, de coloração esverdeada, medindo de 4 a 6 cm de comprimento e largura semelhante, apresentando brácteas ligeiramente salientes;
2. Brácteas: formato lanceolado semelhante às folhas, bordas lisas a levemente serrilhadas, podendo ser simples ou recortadas, até visivelmente tripartidas, medindo de 7 a 12 mm de comprimento, coloração verde, com tonalidades medianas até mais escuras. Superfície recoberta por tricomas glandulares resinosos, de pedicelos curtos a longos, e tricomas não glandulares simples;
3. Bractéolas: ovaladas, ápice afilado, bordas inteiras, medindo cerca de 3 a 5 mm. Coloração verde clara a verde amarelada. Densamente recobertas por tricomas glandulares resinosos;
4. Flores femininas: ocorrem em pares, envolta em sua base por uma bractéola. Cada flor mede cerca de 5 a 10 mm de comprimento total e é constituída por um ovário unilocular, de coloração esbranquiçada, medindo cerca de 1 a 2 mm, continuado por duas ramificações

estigmáticas filiformes, de coloração alaranjada a amarronzada, medindo cerca de 3 a 7 mm de comprimento cada. Superfície densamente recoberta por papilas estigmáticas.

B. Análise microscópica:

1. Epiderme adaxial das brácteas: composta por células poligonais, apresentando estrias epicuticulares; tricomas tectores curtos unicelulares, de formato cônico e curvo, contendo inclusões cistolíticas em sua base; e tricomas multicelulares pedunculados;
2. Face abaxial: presença de tricomas tectores longos unicelulares de paredes espessadas de formato reto ou levemente curvado, podendo apresentar uma inclusão cistolítica na base. Presença de tricomas glandulares com cabeças multicelulares, com células secretórias dispostas radialmente, e pedicelo pluricelular e plurisseriado. Presença de tricomas glandulares sésseis com cabeças multicelulares semelhantes às dos tricomas pedunculados, e pequenos tricomas glandulares bulbosos.
3. Ramificações estigmáticas das flores femininas: recobertas por diversas papilas de paredes finas e formato cilíndrico com ápice arredondado. Presença de papilas estigmáticas destacadas.

Figura 25. Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó de *Cannabis sativa*.
 Legenda: A - aspecto geral da inflorescência feminina: bráctea. B - Aspecto geral de brácteas da inflorescência feminina. C - Aspecto geral de bractéolas da inflorescência feminina; D - aspecto geral de flor feminina: projeções estigmáticas; bractéola. E - Extremidade de uma bractéola observada em microscopia óptica: tricomas glandulares. F - Flor feminina observada em microscopia óptica: ovário, projeções estigmáticas; bractéola; tricomas tectores e tricomas glandulares da bractéola. F1 - detalhe das papilas estigmáticas. G - Detalhe da face adaxial da epiderme de uma bráctea da inflorescência, em vista frontal, mostrando células epidérmicas com estrias epicuticulares e tricoma curto com cystólito. H - tricomas e inclusões sólidas de uma bráctea; H1- tricoma simples unicelular, de paredes espessadas; H2 - tricoma simples unicelular, de paredes mais finas; H3 - tricoma simples, longo, com um cystólito basal; H4 - tricoma simples, curto, com um cystólito grande; H5- tricoma glandular bulboso com cabeça unicelular; H6 - tricoma glandular com pedicelo longo, pluricelular e plurisseriado; H7 - tricoma glandular com pedicelo curto, pluricelular e plurisseriado; H8 - cabeça de tricoma glandular em vista frontal; H9 - tricoma glandular sésstil; H10 - cystólito de carbonato de cálcio; H11 - cristais de oxalato de cálcio (drusas).



Fonte: DE SOUZA, 2022.

5.6 Viabilidade econômica

Para entender a possibilidade de se gerar lucro e retorno financeiro positivo com os produtos desenvolvidos a partir da Cannabis, inicialmente, deve ser citado que o estereótipo negativo relacionado ao uso desta planta foi responsável por regulamentações restritivas e barreiras burocráticas que culminaram na limitação de recursos dedicados à sua pesquisa científica, desenvolvimento e comercialização.

Entretanto, nos últimos anos, em razão da maior compreensão sobre os motivos que levaram a esse estereótipo, bem como do potencial terapêutico da Cannabis, houve um expressivo aumento de movimentos de conscientização sobre os seus benefícios medicinais, e consequentemente avanços e mudanças nas leis e regulamentações⁷⁹.

No Brasil, para entender a trajetória do uso terapêutico da Cannabis é importante analisar o histórico da legislação regulatória, que se inicia com a Portaria 344/98. Por meio desta Portaria a Cannabis foi inserida na lista das plantas e substâncias químicas sob controle especial e o seu uso foi proibido. Em complemento, em 2006 a Lei de Drogas nº 11.343 prescreve medidas para prevenção do uso indevido de drogas, entre elas a Cannabis. Além disso, foram estabelecidas as medidas de atenção e reinserção social de usuários e dependentes de drogas, as normas para repressão à produção não autorizada e ao tráfico ilícito de drogas, bem como a definição dos crimes^{80;81}.

Em direção contrária, em 2014, buscando a conscientização sobre o uso terapêutico do canabidiol, o Conselho Federal de Medicina (CFM) publicou a resolução nº 2.113 orientando sobre as possibilidades de sua prescrição. Assim, em 2015, a ANVISA atualizou a RDC nº344/98 incluindo o canabidiol na lista de substâncias sujeitas à controle especial, possibilitando a sua prescrição com receita em duas vias e implementou a RDC nº 17 que autoriza a pessoa física a importar, em caráter de excepcionalidade, produtos à base de canabidiol em associação com outros fitocanabinoides para uso próprio, mediante prescrição de médico legalmente habilitado. Em 2019 a ANVISA publicou a RDC nº 327 estabelecendo regras para a concessão de autorização sanitária para produção e comercialização no Brasil de produtos derivados de Cannabis^{82;83;84}.

Em seguida, de forma mais rápida diversas resoluções foram estabelecidas pela ANVISA com o propósito de regulamentar de forma mais efetiva a produção e importação do canabidiol^{84;85;86;87}.

- Revisão RDC nº 327/19: a Anvisa dá início ao processo participativo de revisão da norma nos aspectos de incorporação de novas vias de administração dos produtos; regularização da situação das farmácias de manipulação e inclusão da odontologia como especialidade com possibilidade de prescrição; a reconfiguração dos limites de Δ^9 -THC.
- RDC Nº 335/20: dispõe sobre a importação de produtos à base de Cannabis tem seus critérios e burocracias simplificados;
- RDC nº 570/21: altera alguns artigos da RDC 335 e automatiza os processos de importação feito por pessoas físicas;
- RDC nº 659/22: dispõe sobre o controle para a importação e a exportação, com qualquer finalidade, de substâncias, plantas e medicamentos sujeitos a controle especial, bem como define os critérios para a concessão de Autorização Especial Simplificada para Instituição de Ensino e Pesquisa;

Seguido das resoluções publicadas pela Anvisa, o CFM publicou uma atualização da resolução nº 2113/14 por meio da resolução nº 2.324/22, gerando confusão com as prescrições e condições médicas, sendo retificada logo em seguida devido às críticas de pacientes e profissionais⁸⁸.

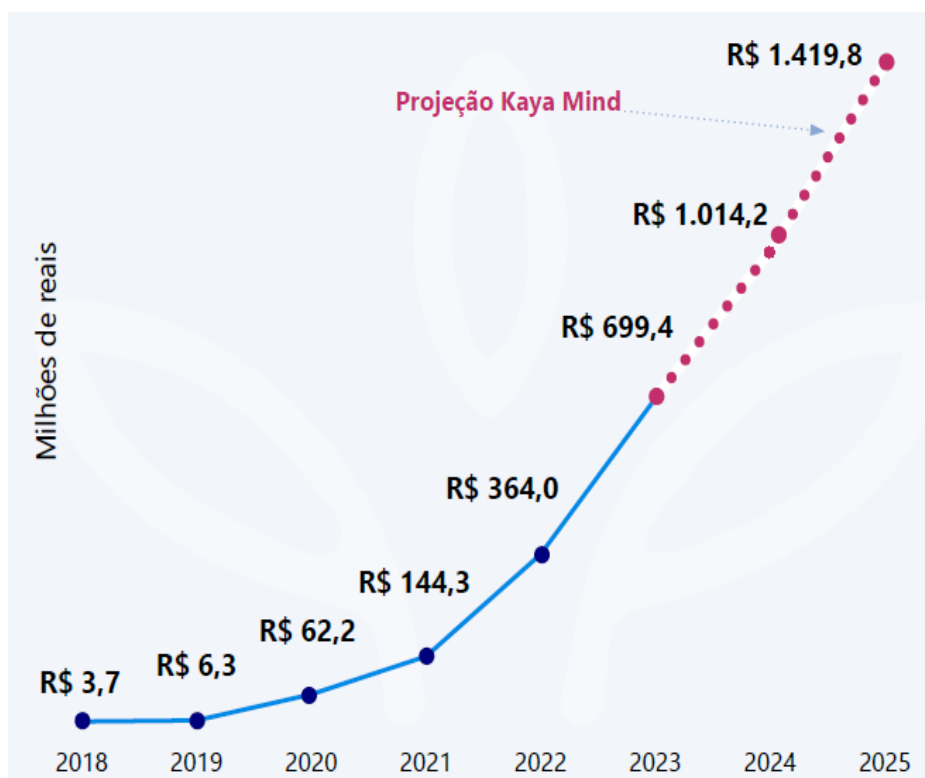
Em 2023, na Câmara e no Senado Federal foram apresentados Projetos de Lei com o objetivo de regulamentar o fornecimento de derivados da Cannabis pelo SUS⁷⁹. Assim, o Projeto de Lei 481/23 cria a política nacional de fornecimento gratuito de medicamentos formulados de derivado vegetal à base de canabidiol, em associação com outras substâncias canabinoides, incluindo o tetrahidrocanabinol, nas unidades de saúde públicas e privadas conveniadas ao Sistema Único de Saúde – SUS⁸⁹. Um exemplo da distribuição gratuita de medicamentos à base de canabidiol é a que acontece no estado de São Paulo para pacientes que fazem tratamento para as síndromes de Dravet, Lennox-Gastaut e Esclerose Tuberosa⁹⁰.

Para o tratamento das demais patologias o acesso aos medicamentos contendo canabidiol é possível por meio de duas formas, importação ou compra direta em drogarias e farmácias. Também, é possível adquirir produtos nacionais produzidos por associações, que normalmente são compostas por pacientes, familiares e profissionais de saúde.

Em razão do alto custo dos medicamentos contendo canabidiol, atualmente existem no Brasil 16 associações com autorização judicial para o cultivo da planta e fornecimento aos associados. Assim, a importação e compra em território nacional é possível para uma pequena parcela de pacientes, a maioria dos pacientes tem o acesso mais facilitado nas associações e no auto cultivo, sendo este possível após ação judicial⁷⁹.

Hoje, no Brasil, 35 produtos à base de Cannabis medicinal estão disponíveis em farmácias e drogarias, mais de 1600 importações já foram realizadas e 87 produtos são disponibilizados por associações. Quanto às ações judiciais que requerem o acesso aos medicamentos por meio dos municípios, dos estados e da união, de acordo com o Anuário da Cannabis Medicinal Kaya Mind, no primeiro semestre de 2023 foram fornecidos produtos à base de Cannabis no valor total de R\$41 milhões de reais. Em relação à projeção neste mercado da Cannabis o crescimento tem aumentado de forma expressiva ao longo dos anos conforme Figura 26 e projeta que no ano de 2024 seja de aproximadamente R\$1 bilhão de reais⁷⁹.

Figura 26. Tamanho do mercado de Cannabis medicinal no Brasil.



Fonte: RISCALA, 2024.

O Anuário da Cannabis Medicinal Kaya Mind também identificou a quantidade de pessoas que podem ser beneficiadas com o uso de terapias à base de Cannabis e o resultado foi de 6,9 milhões de pessoas podem ser tratadas para 23 tipos de condições médicas, sendo que as principais indicações são ansiedade, transtorno do espectro autista e epilepsia, além de patologias denominadas transversais como dor e estresse⁷⁹.

Relacionando a oportunidade de uso desta terapia das patologias citadas acima, verificamos que o efeito entourage tem papel fundamental na combinação de efeitos com os fitocanabinoides presentes na Cannabis. Como citado anteriormente, os principais terpenos encontrados na Cannabis possuem atividades antipsicóticas, antioxidantes, analgésicas, anti-inflamatórias, sedativas, relaxantes musculares e anticancerígenas (mirceno) e efeitos gastroprotetores, analgésicos, anticancerígenos, antifúngicos, antibacterianos, antidepressivos, anti-inflamatórios, antioxidantes, ansiolíticos, analgésicos, neuro protetores, e possui um alto índice de seletividade contra o vírus herpes simples tipo em estudos *in vitro* (β -cariofileno).

Em outros países, a matéria prima resultante da Cannabis tem um alto potencial para diversos setores da economia, e esse mercado já é visto por investidores como um negócio promissor para médio e longo prazo⁹¹. As diferentes possibilidades de uso da Cannabis, que já estão disponíveis para diversos setores são as seguintes:

- Como suplemento alimentar: sementes de cânhamo;
- Em bebidas à base de cannabis: a Ambev criou a Fluent Beverage, que produzirá bebidas derivadas da Cannabis. Entre os produtos nos quais serão incorporados a Cannabis estão; chás, cafés e bebidas para praticantes de esportes. O canabidiol também poderá ser adicionado em cervejas, vinhos e coquetéis;
- Na construção civil: o cânhamo pode ser usado como mistura para concreto e consequentemente na fabricação de blocos, tendo como vantagens o fato de ser uma matéria-prima renovável; possuir elevadas propriedades térmicas, ter boa sinergia com outros materiais e ser reciclável/reutilizável;
- Na fabricação de fibras para tecidos: o cânhamo possui uma resistência oito vezes maior e uma durabilidade quatro vezes maior em relação ao algodão; e como possui boa maleabilidade, pode ser beneficiado em diversos níveis, da lona ao tecido fino.

- No setor de cosméticos: empresas como Avon e Palmolive já possuem patentes de produtos usuais que utilizam a cannabis em sua composição.

A flexibilização do uso e cultivo, que já acontece em alguns países, se mostrou como um importante impulsionador do mercado da Cannabis. Em 2020, nos EUA, o cultivo da Cannabis já se apresentava em quinto lugar. Em valor de mercado ultrapassou o cultivo de algodão, arroz e amendoim, gerando 6,2 bilhões de dólares em receitas⁹¹.

Diante do que foi apresentado, a viabilidade econômica do beneficiamento da Cannabis como matéria prima e o desenvolvimento de produtos obtidos a partir desta planta se mostra relevante. Também, a partir do maior conhecimento sobre as propriedades da Cannabis, e todos os seus possíveis usos que possam vir a serem estabelecidos, o mercado se mostra promissor⁹¹.

6 CONCLUSÕES

Considerando a importância do efeito entourage entre os fitocanabinoides e terpenos na terapêutica com a Cannabis, neste estudo foram avaliados os melhores processos tanto de plantio, armazenamento, obtenção e quantificação dos componentes químicos para preservar e garantir o perfil bioquímico das inflorescências selecionadas. Assim, foi possível concluir:

- 1) Para o cultivo indoor é necessário que a Cannabis seja exposta a um dia artificial de outono e a floração seja induzida em um regime de 12 horas/dia e 12 horas/noite. Se o plantio for feito em climas temperados, as sementes podem ser semeadas ao ar livre na primavera, com germinação ocorrendo em 3 a 7 dias. Em relação ao clima, plantações em regiões ensolaradas e quentes há maior biossíntese de Δ^9 -THC, regiões com clima nublado e frio favorecem alto teor de CBD, e verões frescos causam a redução do teor total de fitocanabinoides. Em contrapartida, condições climáticas secas e ventosas aumentam a concentração dos fitocanabinoides. Um ponto importante durante o plantio é que a fertilização abundante com nitrogênio diminui o teor de Δ^9 -THC. Considerando o efeito entourage é importante destacar que corte de ramos inferiores também altera o perfil químico dos fitocanabinoides e terpenos como CBG, Δ^9 -THC, mircenol, cisocimeno e b-cariofileno, sendo um fator importante para o objetivo dos efeitos terapêuticos esperados.
- 2) Os perfis de metabólitos secundários da Cannabis também sofrem alterações após a colheita, nos processos de secagem, extração e armazenamento, sendo um desafio para produtores. A recomendação segundo a FDA é que a biomassa de Cannabis gerada seja armazenada em tambores, aprovados pela FDA, feitos de fibra, selados, com sacos de polietileno, em temperaturas entre 18 °C a 20 °C por curto prazo de armazenamento. Quando há necessidade de armazenamento a longo prazo, recomenda-se o armazenamento em freezer a -10 °C. Adicionalmente à recomendação da FDA, extratos ricos em Δ^9 -THC devem ser armazenados em baixas temperaturas ao abrigo de luz, e quando ricos em CBD armazenados a baixas temperaturas com luz. A temperatura pode apresentar efeitos na qualidade do produto final em relação à

concentração de fitocanabinoides e terpenos, impactando o efeito entourage pela alteração da concentração dos compostos presentes na Cannabis.

- 3) A *Cannabis sativa* é uma planta com grande complexidade devido à variedade de moléculas com diferentes quimios afinidades e diferentes sensibilidades aos parâmetros dos processos de extração, gerando produtos finais com diversas concentrações. A técnica mais apropriada para a preservar os fitocanabinoides e terpenos presentes na amostra é através do fluido supercrítico pois além de ser uma estratégia promissora para melhorar a qualidade final de produtos farmacêuticos é uma tecnologia que pode ser utilizada em larga escala, apesar de ter desvantagens em relação ao custo da instalação do equipamento, questões relacionadas à segurança e leis que regulam os resíduos gerados. Como os fitocanabinoides neutros são de natureza apolar com alto peso molecular, mas os fitocanabinoides ácidos são polares, é necessário que seja adicionado cossolvente como etanol, acetato de etila e diclorometano. A descarboxilação ocorre em temperaturas entre 100 e 150 °C e a condição adequada na extração por SFE ocorre a 600 bar a 35 °C durante 4 horas, sendo finalizado com precipitação etanólica a -20 °C por 24 horas e posterior remoção do material ceroso por filtração. A maceração dinâmica também é uma técnica de extração apropriada porque evita a descarboxilação. O processo quando realizado por 45 minutos, com etanol como solvente a temperatura ambiente extrai alto teor de CBD. Esse tipo de extração é utilizado por associações e para auto cultivo na produção de extratos artesanais. O solvente de escolha é azeite ou óleo de coco pois esses óleos vegetais preservam os terpenos devido a não evaporação sob aquecimento prolongado, também sendo um ponto importante para a manutenção do efeito entourage.
- 4) Devido à complexidade em relação às moléculas presentes na Cannabis, já citado anteriormente, para a quantificação dos fitocanabinoides presentes na amostra, a extração por HPLC é o método mais eficaz já que evita o processo de descarboxilação, quantificando os fitocanabinoides e terpenos de forma confiável e eficaz. A cromatografia de alta eficiência em coluna C18, com metanol, acetonitrila ou tamponado utilizados como eluente de solvente forte e ácido cítrico como fraco, demonstrou eficácia para a quantificação dos fitocanabinoides. O uso da fase móvel ácida melhora o desempenho da separação pois o formato de pico fica com melhor resolução, principalmente

para os fitocanabinoides ácidos. Colunas de modo misto com partículas de carbono/nano diamante/polímero de amina superficialmente porosa com fase estacionária composta por fase reversa de troca aniônica fraca (C18) fase reversa de troca aniônica forte (amina quaternária) e fase de ligação HILIC retém fortemente o Δ^9 -THCA. Em relação à pressão empregada, uma pressão alta propicia uma condição cinética mais eficiente, com alta taxa de extração dos fitocanabinoides, solubilidade e rendimento. Esse resultado é observado em pressão a 34 MPa e 328 K caso não seja utilizado cossolventes.

- 5) Os atributos de qualidade científica e padrões da Cannabis estão relacionados à realização de várias metodologias. Por meio de métodos analíticos adequados estabelecer a identidade do material e diferenciar espécies parecidas que podem ser utilizadas como adulterantes, assim como identificar a inflorescência da Cannabis. Para a determinação da composição da inflorescência usar de testes quantitativos, como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e cromatografia gasosa (GC) e especificações de qualidade para limitar o conteúdo de contaminantes comuns encontrados na Cannabis. Alguns atributos adicionais de qualidade do produto final são o uso de materiais de referência para o seu preparo e a definição das melhores condições de embalagem e armazenamento. Visto que, o armazenamento dos óleos ricos em CBD o armazenamento deve ocorrer a baixas temperaturas, com luz, e caso esses óleos sejam administrados após 150 dias de armazenamento, como os teores dos fitocanabinoides diminuem cerca de 50%, é necessário o ajuste da dose prescrita. Em relação aos óleos com alto teor de Δ^9 -THC, estes devem ser armazenados em baixas temperaturas, ao abrigo de luz.
- 6) O estereótipo negativo relacionado ao uso da Cannabis como tratamento medicinal foi responsável pela limitação de recursos dedicados à sua pesquisa científica, desenvolvimento e comercialização. A maior compreensão sobre os pontos que foram responsáveis pelo estereótipo negativo do uso da Cannabis aliado à maior compreensão sobre o potencial terapêutico e o aumento das pesquisas sobre o assunto gerou aumento conscientização sobre os seus benefícios medicinais, e conseqüentemente avanços e mudanças nas leis e regulamentações. Por meio do movimento que gerou essas mudanças mais pacientes têm acesso a produtos à base de Cannabis, seja através de

importação, compra em drogarias ou através de associações em um mercado nacional que projeta atingir R\$1 bilhão de reais em 2024.

Por fim, vale destacar que somente no Brasil aproximadamente 6,9 milhões de pessoas que necessitam de tratamento para 23 tipos de condições médicas de difícil tratamento, entre elas a ansiedade, o transtorno do espectro autista e epilepsia, além de patologias conhecidas como transversais, como dor e estresse, podem se beneficiar do efeito entourage presente na Cannabis. Isto porque, os terpenos encontrados na Cannabis possuem importantes atividades terapêuticas que complementam os efeitos dos fitocanabinoides, tais como: antioxidante, analgésica, anti-inflamatória, sedativa, relaxante muscular, antidepressiva, ansiolítica e neuro protetora.

REFERÊNCIAS

- ¹BONINI, S. A.; *et al.* ***Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history.*** Journal of ethnopharmacology, v.227, p.300-315, Dec. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.004>. Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378-8741\(18\)31661-1](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378-8741(18)31661-1). Access in 13 April 2023.
- ²MORAIS, M. E. F. ***Cannabis sativa L. (Cannabaceae): uma abordagem morfológica e medicinal.*** 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Centro de Formação de Professores, Universidade Federal de Campina Grande, Cajazeiras, Paraíba, 2018. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/xmlui/handle/riufcg/8121>. Acesso em 21 abril 2023.
- ³FRANÇA, J. M. C. ***História da Maconha no Brasil.*** 2 ed. São Paulo: Jandaída: 2022. Disponível em: https://www.google.com/books/edition/Hist%C3%B3ria_da_maconha_no_Brasil/1DZ2EAAAQBAJ?hl=pt-BR&gbpv=1&dq=inauthor:%22Jean+Marcel+Carvalho+Fran%C3%A7a%22&printsec=frontcover. Acesso em 20 abril 2023.
- ⁴SCHURMAN, L. D.; *et al.* ***Molecular Mechanism and Cannabinoid Pharmacology. Handbook of experimental pharmacology,*** v. 258, p. 323-353, 2020. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/164_2019_298. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8637936/>. Access in 20 April 2023.
- ⁵ARAÚJO, A.; BORGES, J. C. ***“MACONHA”: o inevitável fracasso da proibição e políticas alternativas.*** Revista Acadêmica do Instituto de Ciências Jurídicas, v. 3, n. 2, p. 50–73, 2016. Disponível em: <https://revistas.unifan.edu.br/index.php/RevistaCJ/article/download/340/272>. Acesso em 13 abril 2023.
- ⁶ZAGANELLI, M. V.; CORREIA, J. V. G. ***A Restrição do uso medicinal da Cannabis sativa face ao princípio da autonomia da vontade / The restriction of the medicinal use of Cannabis sativa in the face of the principle of autonomy of the will.*** Revista Eletrônica Do Curso De Direito, v.13, n.2, p. 611–639, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/1981369429501>. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/revistadireito/article/view/29501>. Acesso em 13 abril 2023.
- ⁷EVANS, B.; MCRAVEN, C. ***Cannabis for Dummies: A Complete and Easy Guide to Cannabis and Cannabinoid.*** Hawaii, EUA. Caregivers Inc. 2017/2018.
- ⁸MARTIN, J. H.; CRANSWICK, N. ***Care and concern with cannabinoids used therapeutically.*** British Journal of Clinical Pharmacology, v. 84, n. 11, p. 2455–2457, 2018. Available em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6177708/>. Access in 01 May 2023.
- ⁹VILLAS BÔAS, G. DE K.; REZENDE, M. DE A. ***Discussão sobre o acesso aos medicamentos derivados da cannabis à luz da Inovação em Saúde no Brasil.*** Revista Fitos, v. 14, n. 2, p. 259–284, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/343842371_Discussao_sobre_o_acesso_aos_medicamentos_derivados_da_Cannabis_a_luz_da_Inovacao_em_Saude_no_Brasil/fulltext/5f44687f299bf13404efc0fa/Discussao-sobre-o-acesso-aos-medicamentos-derivados-da-Cannabis-a-luz-da-Inovacao-em-Saude-no-Brasil.pdf. Acesso em:13 abril 2023.
- ¹⁰OLIVEIRA, L. L.; SILVA, L. N. ***Deslegitimação da criminalização da maconha a partir da criminologia cultural: alguns apontamentos criminológicos em defesa de uma regulamentação dos usos culturais da Cannabis no Brasil.*** Revista

Humanidades e Inovação, v. 7, p. 88–99, 2020. Disponível em: <https://revista.unitins.br/index.php/humanidadeseinovacao/article/view/1491>. Acesso em 06 abril 2023.

¹¹GREGORIO, L. E., & MASCARENHAS, N. G. **O uso medicinal da *Cannabis sativa* L.: regulamentação, desafios e perspectivas no Brasil**. Concilium, [S.l.], v.22, n. 3, p. 191–212, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.53660/CLM-220-23>. Disponível em: <https://clium.org/index.php/edicoes/article/view/220>. Acesso em 06 abril 2023.

¹²MARTINS, D. A.; POSSO I. P. **Legislação atual sobre cannabis medicinal. Histórico, movimentos, tendências e contratendências, no território brasileiro**. Brjp, v.6, p. 75–79, 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/2595-0118.20230026-pt>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/brjp/a/MfJFNtDgvpXHrFpxnFLkCgv/?lang=pt>. Acesso em 27 abril 2023.

¹³KOLTAI, H.; NAMDAR, D. **Cannabis Phytomolecule 'Entourage': From Domestication to Medical Use**. Trends in plant science, v. 25, p. 976-984, Oct. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2020.04.007>. Available in: [https://www.cell.com/trends/plant-science/abstract/S1360-1385\(20\)30122-9?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1360138520301229%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/plant-science/abstract/S1360-1385(20)30122-9?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1360138520301229%3Fshowall%3Dtrue). Access in 30 April 2023.

¹⁴CLARKE, R.C; MERLIN, M.D. **Cannabis. Evolution and ethnobotany**. University of Califórnia Press. Califórnia. 2013. Available in: <https://www.jstor.org/stable/10.1525/j.ctt3fh2f8>. Access: 05 mai. 2023.

¹⁵SOMMANO, S. R.; *et al.* **The Cannabis Terpenes**. Molecules, v. 25, p. 5792, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25245792>. Available in: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/24/5792>. Access in 5 May 2023.

¹⁶PESSOA, D. O. C. ; LIRA, I. V. ; SIQUEIRA, L. da P. **Cannabis Sativa: an integrative review of legal, toxicological and pharmacotherapeutic aspects**. Research, Society and Development, v. 10, n. 15, p. e18101522408, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i15.22408>. Available in: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22408>. Access in 2 January 2024.

¹⁷MCPARTLAND, J. M. **Cannabis Systematics at the Levels of Family, Genus, and Species. Cannabis and cannabinoid research**, v. 3, P. 203-212, Oct. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/can.2018.0039>. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6225593/>. Access in 17 June 2023.

¹⁸GARCIA, B. J. **Monografia de Cannabis: Cannabis sativa**. Vícios: Revista de álcool socidro, Espanha, v. 12, n. 3, p. 1-2, 2000. Disponível em: <https://pnsd.sanidad.gob.es/profesionales/publicaciones/catalogo/bibliotecaDigital/publicaciones/pdf/cannbis.pdf>. Acesso em 17 Julho 2023.

¹⁹THOMAS, B. F.; MAHMOUD, A.E. **The analytical chemistry of cannabis. Quality Assurance, and Regulation of Medicinal and Cannabinoid Preparations**. Editora Estados Unidos. Elsevier. 2016.

²⁰BORILL, B. T. **Caracterização química da planta Cannabis sativa L. a partir de sementes apreendidas pela polícia federal no estado do Rio Grande do Sul**. 2016. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/159507>. Acesso em 10 Julho 2023.

²¹CHALLA, S. K. R. **Kinetics of drying and the effects of drying quality methods (CBD, terpenes and color), of hemp buds (Cannabis sativa L.)**. Tese (Submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science). Dalhousie University Halifax, Nova Scotia, 2020. Available in: <https://dalspace.library.dal.ca/xmlui/handle/10222/80480>. Access in 30 July 2023.

- ²²ANDRE, C. M.; HAUSMAN, J. F.; GUERRIERO, G. ***Cannabis sativa*: The Plant of the Thousand and One Molecules**. *Frontiers in plant science*, v.7, Feb. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00019>. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4740396/>. Access in 15 July 2023.
- ²³ROMANO, L. L.; HAZEKAMP, A. **Cannabis oil: Chemical evaluation of an upcoming cannabis- based medicine**. *Cannabinoids*, v. 1, p. 1-11, 2013. Available in: <https://www.semanticscholar.org/paper/Cannabis-Oil%3A-chemical-evaluation-of-an-upcoming-Romano-Hazekamp/124a1b6d7c6c29aa8c10248e988c95b708e094dd>. Access in 03 July 2023.
- ²⁴MILAY, L., et al. **Metabolic Profiling of Cannabis Secondary Metabolites for Evaluation of Optimal Postharvest Storage Conditions**. *Frontiers in plant science*, v. 11, p. 583605, Oct. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2020.583605> Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7593247/>. Access in 10 August 2023.
- ²⁵ELSHOLY, M. A.; et al. **Phytochemistry of Cannabis sativa L. Progress in the chemistry of organic natural products**, v.103, p. 1-36, 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-45541-9_1. Available in: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-45541-9_1. Access in 23 July 2023.
- ²⁶BAUTISTA, J. L.; YU, S.; TIAN, L. **Flavonoids in Cannabis sativa: Biosynthesis, Bioactivities, and Biotechnology**. *ACS Omega*, v. 6,8, p. 5119-5123, Feb. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.1c00318>. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7931196/>. Access in 20 February 2024.
- ²⁷KUMAR, P.; et al. **Pharmacological properties, therapeutic potential, and legal status of Cannabis sativa L.: An overview**. *Phytotherapy research: PTR*, v. 35, p. 6010-6029, Nov. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.7213>. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.7213>. Access in 13 September 2023.
- ²⁸FISCHEDICK, J. T.; et al. **Metabolic fingerprinting of Cannabis sativa L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes**. *Phytochemistry*, v. 71,17, p. 2058-73, Dec. 2010 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.10.001>. Available in: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031-9422\(10\)00381-X](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031-9422(10)00381-X). Access in 01 May 2023.
- ²⁹BOOTH, J. K.; PAGE, J. E.; BOHLMANN, J. **Terpene synthases from Cannabis sativa**. *PLoS One*, [S.l], v. 12,3, Mar. 2017 DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0173911>. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S003194221000381X?via%3Di> hubdoi:%2010.1371/journal.pone.0173911. Acesso em 17 April 2023.
- ³⁰HANUS, L. O.; HOD, Y. **Terpenes/Terpenoids in Cannabis: Are They Important?** *Medical cannabis and cannabinoids*, [S.l], v. 3,1, p. 25-60, Aug. 2020 DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000509733>. PMID: 34676339; PMCID: PMC8489319. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8489319/>. Access in 06 April 2023.
- ³¹HILLIG, K. W. **A chemotaxonomic analysis of terpenoid variation in Cannabis**. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 32, p. 875-891, Oct. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2004.04.004>. Available in: <https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3732/ajb.91.6.966>. Access in 21 November 2023.

- ³²FONSECA, B. M., *et al.* **O Sistema Endocanabinóide – uma perspectiva terapêutica.** Acta Farmacêutica Portuguesa, v.2, p. 97-104, 2013. ISSN: 2182-3340. Disponível em: [file:///C:/Users/u1123844/Downloads/5-Texto%20Artigo-208-1-10-20151116%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/u1123844/Downloads/5-Texto%20Artigo-208-1-10-20151116%20(1).pdf). Acesso em 27 agosto 2023.
- ³³DE LIMA, E. F. **Estudo da modelagem molecular do receptor canabinoide CB1 e suas interações com o Δ^9 -THC.** Tese (obtenção do título de doutor em ciências físico-química). Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo. São Carlos. 2009. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75131/tde-25082009-110446/pt-br.php>. Acesso em 08 junho 2023.
- ³⁴ZOU, S.; KUMAR, U. **Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System.** International journal of molecular sciences, v. 19, p. 833, Mar. 2018 DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19030833>. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5877694/>. Access in 28 June 2023.
- ³⁵PACHER, P.; KOGAN, N. M; MECHOULAN, R. **Beyond Δ^9 -THC and Endocannabinoids.** Annual review of pharmacology and toxicology, v. 60, p. 637-659, Oct 2020 DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010818-021441>. Available in: <https://www.annualreviews.org/docserver/fulltext/pharmtox/60/1/annurev-pharmtox-010818-021441.pdf?expires=1727310378&id=id&accname=guest&checksum=80C1C38F1726B3464B707C6A0AE1D0A2>. Access in 03 June 2023.
- ³⁶MADRAS, B. K. **Cannabis and medicinal properties.** Addressing the challenges of prescribing controlled drugs, p. 34-45, 2016. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK425767/>. Access in 12 April 2023.
- ³⁷SCARANTE, F. F.; *et al.* **Glial Cells and Their Contribution to the Mechanisms of Action of Cannabidiol in Neuropsychiatric Disorders.** Frontiers in pharmacology, [S.l.], v. 11, Feb. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2020.618065>. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7890128/>. Access in 15 May 2023.
- ³⁸CRIPPA, J. A.; *et al.* **Effect of two oral formulations of cannabidiol on responses to emotional stimuli in healthy human volunteers: pharmaceutical vehicle matters.** Revista brasileira de psiquiatria, São Paulo, v. 44,1, p. 15-20, Jan-Feb. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1516-4446-2020-1684>. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8827362/>. Access in 23 October 2023.
- ³⁹COSTA, B. **On the pharmacological properties of Delta9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC).** Chemistry & biodiversity, v. 4,8. p. 1664-77, Aug. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.200790146>. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.200790146>. Access in 27 April 2023.
- ⁴⁰BRASÍLIA (DF) **Relatório de análise de impacto regulatório sobre produtos de Cannabis para fins medicinais. Gerência de Medicamentos Específicos, Fitoterápicos, Dinamizados, Notificados e Gases Medicinais.** Gerência-Geral de Medicamentos. Segunda Diretoria. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA. 2023. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/regulamentacao/air/analises-de-impacto-regulatorio/2024/arquivos-relatorios-de-air-2024/relatorio_air_produtos_cannabis_dicol_15052024.pdf. Acesso em 25 julho 2024.
- ⁴¹LESSA, M. A.; CAVALCANTI, I. L.; FIGUEIREDO, N. V. **Derivados canabinóides e o tratamento farmacológico da dor.** Revista Dor, v. 17. p. 47–51, Jan 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1806-0013.20160012>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rdor/a/wQZXSJSt4YwzjB5RHZ47Snn/?lang=pt>. Acesso em 13 Junho 2023.

⁴²HEBLINSKI, M.; *et al.* **Terpenoids Commonly Found in Cannabis sativa Do Not Modulate the Actions of Phytocannabinoids or Endocannabinoids on TRPA1 and TRPV1 Channels.** Cannabis and cannabinoid research, v. 5,4, p. 305-317, Dec. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/can.2019.0099>. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7759271/>. Access in 3 June. 2023

⁴³CHRISTELLE, C.M.; HAUSMAN, J.F.; GUERRIERO, G. **Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules.** Frontiers in plant science, v.7, p. 19, Feb. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00019>. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4740396/>. Access in 17 May 2023.

⁴⁴POTTER, D. J. **A review of the cultivation and processing of cannabis (Cannabis sativa L.) for production of prescription medicines in the UK.** Drug Test Anal, v.6, p. 31-8, Jan-Fev 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/dta.1531>. Available in: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dta.1531>. Access in 3 May 2023.

⁴⁵DA COSTA, P. A. **Quantificação química de CBD e Δ^9 -THC e análise bacteriológica de extratos de Cannabis sativa: a importância da regulamentação.** 2022. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciências da saúde) - Universidade do Sul de Santa Catarina, Palhoça, Santa Catarina, Brasil, 2022. Disponível em: <https://repositorio.animaeducacao.com.br/items/1ec96034-d728-4720-8982-bc617fd1b214>. Acesso em 3 Maio 2023.

⁴⁶PACÍFICO, D.; MISELLI, F.; CARBONI, A. **Time course of cannabinoid accumulation and chemotype development during the growth of Cannabis sativa L.** Euphytica, v. 160, p. 231–240, Aug. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-007-9543-y>. Available in: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10681-007-9543-y>. Access in 27 May 2023.

⁴⁷LAZARJANI, M. P.; YOUNG, M. P.; KEBEDE, L. *et al.* **Processing and extraction methods of medicinal cannabis: a narrative review.** Journal of Cannabis Research, v. 3, p. 32, Jul. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s42238-021-00087-9>. Available in <https://j cannabisresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42238-021-00087-9>. Access in 22 October 2023.

⁴⁸AIZPURUA-OLAIZOLA, O.; *et al.* **Evolution of the Cannabinoid and Terpene Content during the Growth of Cannabis sativa Plants from Different Chemotypes.** Journal of natural products, v. 79. p.324-31, Feb. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00949>. Available in: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jnatprod.5b00949>. Access in 12 April 2023.

⁴⁹ADDO, P. W.; *et al.* **Cannabis chemistry, post-harvest processing methods and secondary metabolite profiling: A review.** Industrial Crops and Products, v. 170, 2021, 113743, ISSN 0926-6690. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113743>. Available in: https://www.researchgate.net/publication/352508184_Cannabis_chemistry_post-harvest_processing_methods_and_secondary_metabolite_profiling_A_review. Access in 07 October 2023.

⁵⁰RASTELY, N. B. C. **Estudo da estabilidade de fitocanabinoides em extratos medicinais de Cannabis sativa L, em diferentes condições de armazenamento.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Biotecnologia) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA), Foz do Iguaçu, Paraná, 2023. Disponível

em:

https://www.oasisbr.ibict.br/vufind/Record/UNIL_dab53ce73cd9858e87cc4da20d44e230. Acesso em 10 Janeiro 2024.

⁵¹NAMDAR, D.; *et al.* **Variation in the compositions of cannabinoid and terpenoids in *Cannabis sativa* derived from inflorescence position along the stem and extraction methods.** Industrial Crops and Products, v. 113, p. 376-382, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.060> Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092666901830061X>. Access in 28 May 2023.

⁵²AGARWAL, C.; *et al.* **Ultrasound-Assisted Extraction of Cannabinoids from *Cannabis Sativa* L. Optimized by Response Surface Methodology.** Journal of food science, v. 83, p. 700–710, Feb 2018.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.14075>. Available in: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1750-3841.14075>. Access in 14 May 2023.

⁵³DE SOUZA, M.R. **Desenvolvimento de proposta de monografia farmacopeica de inflorescências de *Cannabis sativa* L. 2022.** Tese (doutorado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2022. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/243076>. Acesso em 20 Agosto 2024.

⁵⁴RAMIREZ, C. L.; FANOVICH, M. A.; CHURIO, M. A. **Chapter 4 - Cannabinoids: Extraction Methods, Analysis, and Physicochemical Characterization.** Studies in Natural Products Chemistry, v. 61, p. 143-173, 2019.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-64183-0.00004-X>. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B978044464183000004X>. Access in 2 April 2023.

⁵⁵RUSSO, E. B.; PLUMB, J.; WHITELEY, V. L. **Novel Solventless Extraction Technique to Preserve Cannabinoid and Terpenoid Profiles of Fresh Cannabis Inflorescence.** Molecules, Switzerland, v. 26, p. 5496, Sep 2021. 2021 DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26185496>. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8468333/>. Access in 15 August 2023.

⁵⁶BRIGHENTI, V.; *et al.* **Development of a new extraction technique and HPLC method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type *Cannabis sativa* L. (hemp).** Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, v.143, p. 228-236, Sep. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.049>. Available in: https://www.researchgate.net/publication/317343409_Development_of_a_new_extraction_technique_and_HPLC_method_for_the_analysis_of_non-psychoactive_cannabinoids_in_fibre-type_Cannabis_sativa_L_hemp. Access in: 19 October 2023.

⁵⁷LEMES, M. R. **Extração do óleo de gergelim.** Tese (conclusão do curso de Engenharia Química). Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia. 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/20608/5/ExtracaoOleoGergelim.pdf>. Acesso em 11 Julho 2024.

⁵⁸DE CASTRO, M.D., CAPOTE, F. P. **Soxhlet extraction: Past and present panacea.** Journal of Chromatography A v. 1217, p. 2383-2389, 2010. ISSN 0021-9673. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027> Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967309016884>. Access in 25 August 2024.

- ⁵⁹ATTARD, T. M.; *et al.* **Utilization of supercritical fluids for the effective extraction of waxes and Cannabidiol (CBD) from hemp wastes.** Industrial Crops and Products, v. 112, p. 38-46, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.045>. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669017307306>. Access in 27 August 2023.
- ⁶⁰WIANOWSKA, D.; DAWIDOWICZ, A. L.; KOWALCZYK, M. **Transformations of Tetrahydrocannabinol, tetrahydrocannabinolic acid and cannabinol during their extraction from *Cannabis sativa* L.** J Anal Chem, v. 70, p. 920–925, Jul. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1134/S1061934815080183>. Available in: <https://link.springer.com/article/10.1134/S1061934815080183>. Access in 29 May 2023.
- ⁶¹ESMAEILZADEH, K. R.; DEGHAN, B. **Optimization of ultrasound-assisted solvent extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil using RSM: Evaluation of oxidative stability and physicochemical properties of oil.** Food science & nutrition, v. 8,9, p. 4976-4986, Jul 2020. doi: 10.1002/fsn3.1796. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/fsn3.1796>. Access in 15 June 2023.
- ⁶²VILLAVERDE, P. S. **Técnicas de extracción y caracterización de cannabinoides a partir de la planta *Cannabis Sativa* L.** Faculdade de Ciência (Graduação em química) - Universidade das Ilhas Baleares, Palma de Maiorca, Espanha, 2019-2020. Disponível em: <https://dspace.uib.es/xmlui/handle/11201/154558>. Acesso em 13 June 2023.
- ⁶³OMAR, J.; *et al.* **Optimisation and characterisation of marihuana extracts obtained by supercritical fluid extraction and focused ultrasound extraction and retention time locking GC-MS.** Journal of separation science, v. 36, p. 1397-404, Apr. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.5151/10.1002/jssc.201201103>. Available in: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jssc.201201103>. Access in 3 June 2023.
- ⁶⁴GRIJÓ, D. R.; CARDOZO, L. F. **Análise de canabinóides neutros em derivados de Cannabis via GC/MS.** V Semana da Engenharia Química da Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, v. 4, p. 23-27, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.5151/SEQUFES2016-006>. Disponível em: <https://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/anlise-de-canabinides-neutros-em-derivados-de-cannabis-via-gcms-25532>. Acesso em 13 August 2023.
- ⁶⁵GRIJÓ, D. R. **Extração de bioativos derivados de Cannabis via fluidos pressurizados.** 2018. 87 f. Dissertação (mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR. 2018. Disponível em: <http://repositorio.uem.br:8080/jspui/handle/1/5862>. Acesso em 18 Maio 2023.
- ⁶⁶DA PORTO, C.; VOINOVICH, D.; DECORTI, A.; NATOLINO, A. **Response surface optimization of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) oil yield and oxidation stability by supercritical carbon dioxide extraction.** The Journal of Supercritical Fluids, v. 68, p. 45-41, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2012.04.008>. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0896844612001490>. Access in 01 August 2023.
- ⁶⁷ROVETTO, A. J.; AIETA, N. V. **Supercritical carbon dioxide extraction of cannabinoids from *Cannabis sativa* L.** The Journal of Supercritical Fluids, [S.l.], v. 129, p. 16-27, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules28093849>. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10180460/>. Acesso em 10 October 2023.
- ⁶⁸DE SOUZA, M. A. **Avaliação dos processos de produção caseira de extratos de *Cannabis sativa* L. para fins medicinais.** 2022. Trabalho de Conclusão de Curso

(Bacharel em Farmácia-Bioquímica) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Araraquara, São Paulo, 2022. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/238855>. Acesso em 19 Maio 2024.

⁶⁹GALAND, N.; *et al.* **Separation and identification of cannabis components by different planar chromatography techniques (TLC, AMD, OPLC).** Journal of Chromatographic Science, v. 41, p. 130–134, Mar. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/chromsci/42.3.130>. Available in: <https://academic.oup.com/chromsci/article/42/3/130/282899>. Access in 13 July 2024.

⁷⁰NAÇÕES UNIDAS. **Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis (Revisado y actualizado).** Manual de uso dos laboratórios nacionais de narcóticos. Viena, 2010. ISBN 978-92-1-348147-9. Disponível em: https://www.unodc.org/documents/scientific/Cannabis_manual-Sp.pdf. Acesso em: 27 July 2024.

⁷¹CITTI, C.; *et al.* **Medicinal cannabis: Principal cannabinoids concentration and their stability evaluated by a high-performance liquid chromatography coupled to diode array and quadrupole time of flight mass spectrometry method.** Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, v.128, p.201-209, Sep. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2016.05.033>. Available in: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0731-7085\(16\)30272-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0731-7085(16)30272-2). Access in 14 May 2023.

⁷²GARCÍA-VALVERDE, M. T.; *et al.* **Effect of temperature in the degradation of cannabinoids: From a brief residence in the gas chromatography inlet port to a longer period in thermal treatments.** Frontiers in Chemistry, v. 10, p. 1-11, Nov 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fchem.2022.1038729>. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9664148/>. Access in 29 October 2023.

⁷³ANVISA. **RDC nº 327, de 9 de dezembro de 2019.** Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/anvisa-autoriza-mais-tres-produtos-derivados-de-cannabis#:~:text=A%20Resolu%C3%A7%C3%A3o%20da%20Diretoria%20Colegiada,ser%20disponibilizados%20%C3%A0%20popula%C3%A7%C3%A3o%20brasileira>. Acesso em 30 Julho 2024.

⁷⁴NANADAKUMARA, S. D. *et al.* **“Cannabis Inflorescence for Medical Purposes: USP Considerations for Quality Attributes”.** Journal of natural products vol. 83,4 (2020): 1334-1351. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01200>. Available in: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jnatprod.9b01200>. Access in 17 July 2024.

⁷⁵ANVISA. **Gerência de avaliação de segurança e eficácia - GESEF. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos.** Brasília, 31 de janeiro de 2013 – Versão 2. Disponível em: <file:///C:/Users/u1123844/Downloads/Guia%20para%20a%20Condu%C3%A7%C3%A3o%20de%20Estudos%20N%C3%A3o%20Cl%C3%ADnicos%20de%20Toxicologia%20e%20Seguran%C3%A7a%20Farmacol%C3%B3gica%20Necess%C3%A1rios%20ao%20Desenvolvimento%20de%20Medicamentos%20-%20Vers%C3%A3o%202.pdf>. Acesso em 30 Julho 2024.

⁷⁶ANVISA. **Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 660, de 30 de março de 2022.** Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6415139/RDC_660_2022_.pdf/cddad7b2-6a6c-4fbd-b30b-d56f38c50755. Acesso em 30 Julho 2024.

⁷⁷ANVISA. **Resolução RDC nº 26, de 13 de maio de 2014.** Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/daf/pnpmf/orientacao-ao-prescritor/Publicacoes/resolucao-rdc-no-26-de-13-de-maio-de-2014.pdf/view>. Acesso em: 02 Agosto 2024.

⁷⁸AMERICAN HERBAL PHARMACOPEIA. **Cannabis Inflorescence. Cannabis spp. Standard of identify, analysis and quality control.** Revision, 2014. Available in: <https://z-lib.id/book/cannabis-inflorescence-cannabis-spp-standards-of>. Access in 3 June 2024.

⁷⁹RISCALA, M. E., et al. **Anuário da Cannabis medicinal. Os avanços legislativos e o impacto da regulamentação no mercado e na saúde no Brasil.** 2a edição. São Paulo. 2024. Disponível em: <https://kayamind.com/diretorio-de-marcas-anuario-medicinal/>. Acesso em 14 August 2024.

⁸⁰ANVISA. **PORTARIA Nº 344, de 2 de maio de 1998.** Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1998/prt0344_12_05_1998_rep.html. Acesso em: 02 Agosto 2024.

⁸¹MINISTÉRIO DA JUSTIÇA. **Lei nº 11.343 de 23 de agosto de 2006.** Disponível em: <https://legislacao.presidencia.gov.br/atos/?tipo=LEI&numero=11343&ano=2006&ato=f9dATTU5kMRpWT9e4#:~:text=INSTITUI%20O%20SISTEMA%20NACIONAL%20D E,CRIMES%20E%20D%C3%81%20OUTRAS%20PROVID%C3%84NCIAS>. Acesso em: 02 Agosto 2024.

⁸²CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA. **Resolução CFM 2113/2014.** Disponível em: <https://portal.cfm.org.br/canabidiol/novasregras.php#:~:text=Resolu%C3%A7%C3%A3o%20cfm%202113%2F2014&text=Aprova%C3%A7%C3%A3o%3A%20Est%C3%A1%20autorizado%20o%20uso,sejam%20refrat%C3%A1rias%20aos%20tratamentos%20convencionais>. Acesso em: 02 Agosto 2024.

⁸³ANVISA. **RDC nº 17, de 16 de abril de 2010.** Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0017_16_04_2010.html. Acesso em: 02 Agosto 2024.

⁸⁴ANVISA. **RDC nº 327, de 9 de dezembro de 2019.** Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5533192/RDC_327_2019_.pdf/db3ae185-6443-453d-805d-7fc174654edb. Acesso em: 02 Agosto 2024.

⁸⁵ANVISA. **RDC nº 335, de 24 de janeiro de 2020.** Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2867344/RDC_335_2020_COMP.pdf/3db24cab-fd9f-4c73-bb48-1e5612f83a38. Acesso em: 02 Agosto 2024.

⁸⁶ANVISA. **RDC nº 570, de 6 de outubro de 2021.** Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6335212/RDC_570_2021_.pdf/ba4a0bbd-aae2-4c33-b315-f94e8955f7a1. Acesso em: 02 Agosto 2024.

⁸⁷ANVISA. **RDC nº 659, de 30 de março de 2022.** Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6415139/RDC_659_2022_.pdf/17feba d0-168c-4903-81e8-19f286a2db70. Acesso em: 02 Agosto 2024.

⁸⁸CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA. **Resolução CFM nº 2.324/2022.** Disponível em: <https://sistemas.cfm.org.br/normas/visualizar/resolucoes/BR/2022/2324>. Acesso em: 02 Agosto 2024.

⁸⁹CÂMARA DOS DEPUTADOS - **Projeto prevê distribuição gratuita de medicamentos a base de Canabidiol no SUS.** Disponível em: <https://www.camara.leg.br/noticias/944102-projeto-preve-distribuicao-gratuita-de-medicamento-a-base-de-canabidiol-no-sus/> acesso em: 01 de junho de 2024. Acesso em: 02 Agosto 2024.

⁹⁰GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Governo de sp regulamenta lei que permite distribuição de remédios a base de canabidiol.** Disponível em : <https://www.saopaulo.sp.gov.br/spnoticias/ultimas-noticias/governo-de-sp-regulamenta-lei-que-permite-distribuicao-de-remedios-a-base-de-canabidiol/>. Acesso 07 Agosto 2024.

⁹¹FERREIRA, T. A. **Estudos sobre a viabilidade econômica para uso da cannabis em diversos setores industriais e sua contextualização na sociedade brasileira.** Tese (bacharel em ciências farmacêuticas). Universidade federal de ouro preto ICSA Instituto de Ciências Sociais Aplicado, Mariana. 2021. Disponível em: <https://www.monografias.ufop.br/handle/35400000/3682>. Acesso em 13 Junho 2024.