

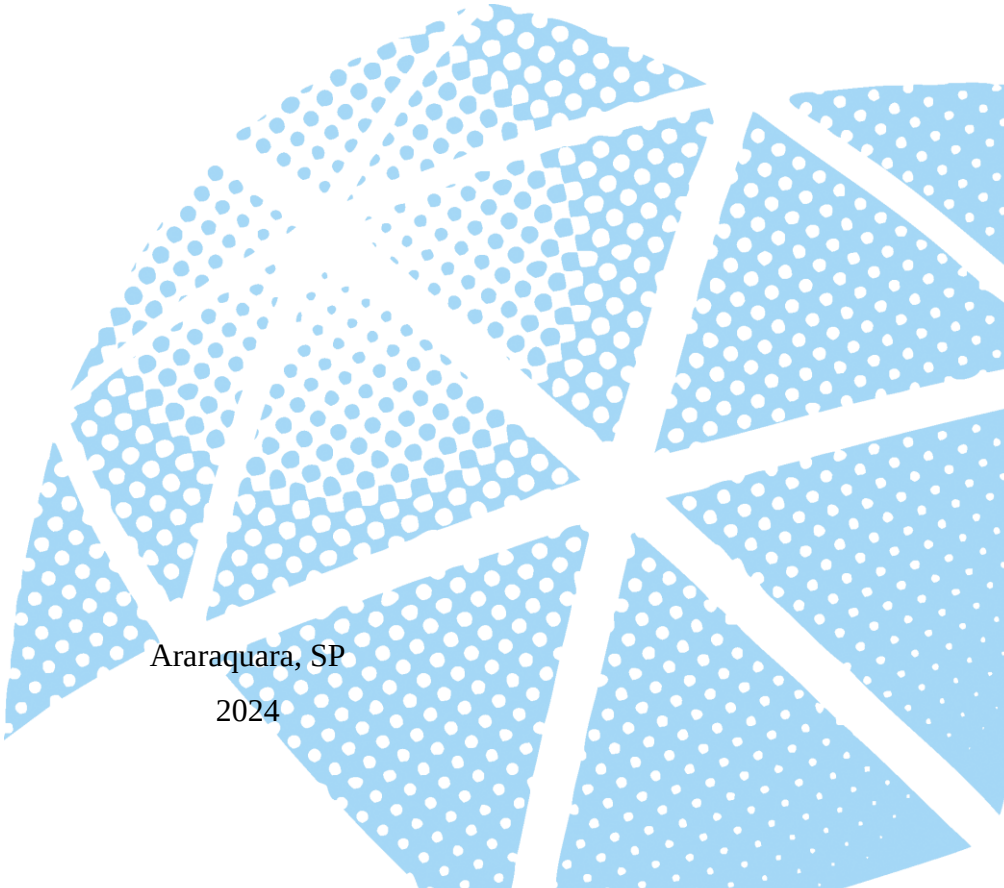
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade De Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

GIOVANNA BESSI EVANGELISTA

AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE *IN SILICO* DE COMPOSTOS CANABINOIDES

Araraquara, SP

2024



GIOVANNA BESSI EVANGELISTA

AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE *IN SILICO* DE COMPOSTOS CANABINOIDES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de
Ciências Farmacêuticas, Araraquara, para obtenção do
título de bacharela em Farmácia-Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. André Gonzaga dos Santos

Coorientadora: Profa. Dra. Tamires Amabile Valim
Brigante

Araraquara, SP

2024

-
- E92a** Evangelista, Giovanna Bessi.
Avaliação de toxicidade *in silico* de compostos canabinoides /
Giovanna Bessi Evangelista. – Araraquara, 2024.
93 f. : il.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação – Farmácia
Bioquímica) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas.
- Orientador: André Gonzaga dos Santos.
Coorientadora: Tamires Amabile Valim Brigante.
1. *Cannabis sativa*. 2. Carcinogenicidade. 3. Mutagenicidade. 4.
Toxicidade aguda. 5. Toxicidade crônica. I. Santos, André Gonzaga
dos, orient. II. Brigante, Tamires Amabile Valim, coorient. III. Título.

GIOVANNA BESSI EVANGELISTA

AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE *IN SILICO* DE COMPOSTOS CANABINOIDES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, para obtenção do título de Grau acadêmico (Bacharela) em Farmácia-Bioquímica.

Data da defesa: 09/12/2024

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Tamires Amabile Valim Brigante
Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia - Campus de Salvador

Dr. Flávio Alexandre Carvalho
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista - Campus de Araraquara

Me. Sven Zalewski
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista - Campus de Araraquara

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha mãe Eliana Bessi, por todo incentivo durante a minha trajetória acadêmica e por segurar o meu mundo quando eu não pude.

Ao meu irmão Miguel Bessi, que me confortou durante as madrugadas mais difíceis, eu tenho orgulho do homem que você é e está se tornando.

As minhas amigas, Gabrielle Caroline e Thamires Aiéllo, que estiveram ao meu lado durante todo o percurso, incentivando e tornando a jornada mais leve, sem vocês essa caminhada seria muito mais difícil. Em especial a minha terceira orientadora Geovana Schiavo, por ouvir minhas reclamações e estar sempre presente, mesmo nos momentos mais desafiadores.

Agradeço a mim mesma pela dedicação, persistência e coragem de enfrentar este desafio. Este trabalho é resultado de noites mal dormidas e momentos de dúvida, mas também de aprendizado e crescimento pessoal. Este estudo não é apenas um marco acadêmico, mas também uma prova do que sou capaz de realizar quando me dedico de coração e mente a um objetivo.

Ao meu orientador Dr. André Gonzaga dos Santos, que me deu a oportunidade de fazer parte desse projeto.

À minha coorientadora, Dra. Tamires Amabile Valim Brigante, por propor o tema tão relevante e atual. Sua orientação foi essencial para a conclusão deste projeto.

Aos professores do curso, por todo o aprendizado e contribuições ao longo dos anos de estudo.

À minha instituição de ensino, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, por proporcionar a estrutura e os recursos necessários para a realização deste trabalho.

“Essa não é uma guerra contra as drogas, é uma guerra contra pessoas”
(Martins; Valente; Pires, 2019).

RESUMO

Introdução: Considerando o aumento da busca por novos compostos farmacológicos ativos, metabólitos secundários vegetais têm se destacado em pesquisas científicas. *Cannabis sativa* L., possui compostos com inúmeros efeitos terapêuticos. No entanto, a utilização dessas substâncias na terapia requer a comprovação de eficácia e segurança. Os métodos alternativos ao uso de animais têm demonstrado ser estratégias válidas para a redução e substituição destes em avaliações toxicológicas, além de contribuir para o *screening* de compostos seguros através de metodologia que integra o princípio dos 3 R's (redução, refinamento e substituição do uso de animais). **Objetivo:** Avaliar a toxicidade aguda e crônica, a mutagenicidade e carcinogenicidade dos fitocanabinoides de *C. sativa* (canabidiol, canabigerol, canabicromeno, ácido canabigerólico e Δ^9 -tetrahydrocannabinol) por meio de ferramentas *in silico*. **Metodologia:** Foi realizada a triagem *in silico* de possíveis efeitos tóxicos produzidos pela exposição aos fitocanabinoides. Para isso foi utilizada a metodologia *in silico* QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*, relação estrutura-atividade quantitativa), que por meio de modelos computacionais e matemáticos permite inferir a probabilidade de ocorrência de efeitos tóxicos. O *software* OECD QSAR Toolbox foi utilizado para realizar as predições de toxicidade e ainda, para entender os mecanismos envolvidos nos possíveis danos causados pelas substâncias testadas. Foi utilizada a fórmula SMILES (*simplified molecular input line entry specification*) para a entrada (*input*) da substância no *software* e a confirmação ocorreu pela conferência do nome químico e número CAS. **Resultados:** Foram identificados alertas estruturais para o canabidiol (CBD), canabigerol (CBG) e ácido canabigerólico (CBGA). O Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) e o canabicromeno (CBC), no entanto, não apresentaram alertas estruturais significativos. Em termos de toxicidade crônica, o CBD exibiu efeitos positivos, enquanto o THC apresentou um NOEL (maior dose que não são observados efeitos tóxicos) de 50 mg/kg. O CBC e o CBG mostraram resultados divergentes quanto aos efeitos adversos sob administração crônica. Nos testes de carcinogenicidade, o CBD não apresentou resultados positivos, em contraste com o THC, CBC e CBG, que apresentaram resultados variados. Em relação à toxicidade genética, apenas o THC não demonstrou resultados positivos. Enfim o CBGA exibiu alertas estruturais para mutagenicidade e carcinogenicidade. **Conclusão:** O perfil de toxicidade dos fitocanabinoides estudados é, de modo geral, considerado relativamente seguro. No entanto, alguns fitocanabinoides apresentaram alertas para toxicidade aguda, crônica, carcinogenicidade e mutagenicidade, indicando a necessidade de cautela em seu uso, especialmente em doses elevadas ou com exposição prolongada. O CBD mostrou alertas para derivados de resorcinol e fenóis hidroxilados, os quais podem levar à mutagenicidade por meio da geração de metabólitos reativos, além do potencial para toxicidade crônica e genética, mas sem indicativos de carcinogenicidade. O THC apresentou apenas potencial carcinogênico em camundongos. O CBC teve resultados divergentes quanto à toxicidade crônica e genética, mas indicou carcinogenicidade em camundongos machos. O CBG exibiu alertas para resorcinol, fenóis e alquilbenzenos, substâncias conhecidas por gerar metabólitos reativos, além do potencial cancerígeno e genotóxico sob certas condições. Por fim, o CBGA apresentou alertas para alquilbenzenos e aceptores de hidrogênio, compostos que interagem com o DNA e/ou proteínas por meio de ligações não covalentes. Esses resultados sugerem que, embora os fitocanabinoides tenham potencial terapêutico, é fundamental considerar os riscos potenciais associados a cada substância.

Palavras-chave: *Cannabis sativa*; carcinogenicidade; mutagenicidade; toxicidade aguda; toxicidade crônica.

ABSTRACT

Introduction: Increasing the search for new active pharmacological compounds, secondary metabolites have been highlighted in scientific research. *Cannabis sativa* L. has compounds with numerous therapeutic effects. However, the use of organic substances in therapy requires proof of efficacy and safety. Alternative methods to the use of animals present valid strategies for the reduction and replacement of these in toxicological evaluations, in addition to contributing to the screening of safe compounds through a methodology that integrates the principle of the 3 R's (reduction, refinement and replacement of the use of animals). **Objective:** To evaluate the acute and chronic toxicity, mutagenicity and carcinogenicity of phytocannabinoids from *C. sativa* (cannabidiol, cannabigerol, cannabichromene, cannabigerolic acid and Δ^9 -tetrahydrocannabinol) using *in silico* tools. **Methodology:** An *in silico* screening of possible toxic effects produced by exposure to phytocannabinoids was performed. For this purpose, the *in silico* QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) methodology was used, which, through computational and mathematical models, allows inferring the probability of occurrence of toxic effects. The OECD QSAR Toolbox *software* was used to make toxicity predictions and also to understand the mechanisms involved in the possible damage caused by the tested substances. The SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry Specification) formula was used to input the substance into the *software* and periodically confirmed by checking the chemical name and CAS number. **Results:** Structural alerts were identified for cannabidiol (CBD), cannabigerol (CBG) and cannabigerolic acid (CBGA). Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) and cannabichromene (CBC), however, did not indicate structural alerts. In terms of chronic toxicity, CBD exhibited positive effects, while THC presented a NOEL (highest dose at which no toxic effects are presented) of 50 mg/kg. CBC and CBG showed divergent results regarding adverse effects under chronic administration. In carcinogenicity tests, CBD did not present positive results, in contrast to THC, CBC and CBG, which presented varied results. Regarding genetic toxicity, only THC did not present positive results. Finally, CBGA exhibited structural alerts for mutagenicity and carcinogenicity. **Conclusion:** The toxicity profile of the trained cannabinoids is, in general, considered relatively safe. However, some cannabinoids have alerts for acute and chronic toxicity, carcinogenicity and mutagenicity, imposing the need for caution in their use, especially at high doses or with prolonged exposure. CBD showed warnings for resorcinol compounds and hydroxylated phenols, which can lead to mutagenicity through the generation of reactive metabolites, in addition to the potential for chronic and genetic toxicity, but without indications of carcinogenicity. THC showed only carcinogenic potential in mice. CBC had conflicting results regarding chronic and genetic toxicity, but indicated carcinogenicity in male mice. CBG showed warnings for resorcinol, phenols and alkylbenzenes, substances known to generate reactive metabolites, in addition to the potential carcinogenic and genotoxic potential under certain conditions. Finally, CBGA sent warnings for alkylbenzenes and hydrogen acceptors, compounds that interact with DNA and/or proteins through non-covalent bonds. These results suggest that, although cannabinoids have therapeutic potential, it is essential to consider the potential risks associated with each substance.

Keywords: *Cannabis sativa*; carcinogenicity; mutagenicity; acute toxicity; chronic toxicity.

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. <i>Data gap filling</i> para toxicidade aguda do canabidiol.	43
QUADRO 2. <i>Data gap filling</i> para toxicidade crônica do canabidiol.	44
QUADRO 3. <i>Data gap filling</i> para carcinogenicidade do canabidiol.	45
QUADRO 4. <i>Data gap filling</i> para toxicidade genética do canabidiol.	46
QUADRO 5. <i>Data gap filling</i> para carcinogenicidade do Δ^9 -tetrahydrocannabinol.....	48
QUADRO 6. <i>Data gap filling</i> para toxicidade genética do Δ^9 -tetrahydrocannabinol.....	49
QUADRO 7. <i>Data gap filling</i> para carcinogenicidade do canabicromeno.	52
QUADRO 8. <i>Data gap filling</i> para toxicidade genética do canabicromeno.....	53
QUADRO 9. <i>Data gap filling</i> para carcinogenicidade do canabigerol.	57
QUADRO 10. <i>Data gap filling</i> para toxicidade genética do canabigerol.	60
QUADRO 11. Comparação dos alertas estruturais encontrados nas moléculas CBD, THC, CBC, CBG e CBGA.	65
QUADRO 12. Comparação do <i>endpoint</i> DL ₅₀ para as moléculas CBD, THC, CBC, CBG e CBGA.	67
QUADRO 13. Comparação do <i>endpoint</i> de carcinogenicidade para as moléculas CBD, THC, CBC, CBG e CBGA.	71
QUADRO 14. Comparação do <i>endpoint</i> de toxicidade genética para as moléculas CBD, THC, CBC, CBG e CBGA.	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-AG	2-araquidonoil glicerol
AA	Ácido araquidônico
Abrace	Associação Brasileira de Apoio Cannabis Esperança
AEA	Anandamida
AEP	Autorização Especial Simplificada
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APEPI	Associação de Apoio à Pesquisa e a Pacientes de Cannabis Medicinal
cAMP	Adenosina monofosfato cíclica
CB1	Receptor canabinoide tipo 1
CB2	Receptor canabinoide tipo 2
CBC	Canabicromeno
CBCA	Ácido canabicromênico
CBD	Canabidiol
CBDA	Ácido canabidiólico
CBG	Canabigerol
CBGA	Ácido canabigerólico
CBL	Canabiciclol
CBN	Canabinol
CBND	Canabinodiol
CCV	Canais de cálcio sensíveis à voltagem
CHL	Células pulmonares de hamster chinês
CHO	Células de ovário de hamster chinês
CUN	Convenção Única sobre Narcóticos
DAG	Diacilglicerol
DAGL	Diacilglicerol lipase
DB QSAR	Banco de dados para relação quantitativa estrutura-atividade
DEA	<i>Drug Enforcement Administration</i>
DL ₅₀	Dose letal média
e.g.	Exempli gratia (por exemplo)
EC	Canabinoides endógenos
ECHA	Agência Europeia dos Produtos Químicos
ECS	Sistema endocanabinoide

EFSA	Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
FAAH	Hidrolase de amida de ácidos graxos
FAD	Oxidases dependentes de flavina adenina dinucleotídeo
FDA RCA	Análise de conformidade regulatória do <i>Food and Drug Administration</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FEMA	Associação de Fabricantes de Sabores e Extratos
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GIRKs	Canais de potássio sensíveis à proteína G
GPCRs	Receptores acoplados à proteína G
HESS	Histopatológico de Órgãos para Sinais de Segurança
HGPRT	Hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
ISS	Instituto Italiano Superior de Saúde
IUCLID	<i>International Uniform Chemical Information Database</i>
LOAEL	<i>Lowest observable adverse effect level</i>
LSD	Dietilamida do ácido lisérgico
MAGL	Lipase monoacilglicerol
MAPK	Proteinoquinase ativada por mitógenos
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
NAPE	<i>N</i> -acil-fosfatidiletanolamina
NOEL	<i>No Observed Effect Level</i>
OASIS	Sistema de Informação de Alertas Químicos
OCDE	Organização para a Cooperação e o Desenvolvimento Econômico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PKA	Proteinoquinase A
QSAR	<i>Quantitative structure–activity relationship</i>
RAAF	<i>Read-across Assessment Framework</i>
RAM	Reação adversa ao medicamento
REACH	Registro, Avaliação, Autorização e Restrição de Produtos Químicos
SAR	<i>Structure–activity relationship</i>
SHE	Células de embrião de hamster sírio
SISNAD	Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas

SLRL	Teste letal recessivo ligado ao sexo
SMILES	<i>Simplified molecular input line entry specification</i>
TEA	Transtornos do Espectro Autista
TGO	Transaminase glutâmica oxalacética
TGP	Transaminase glutâmica pirúvica
THC	Δ^9 -tetrahydrocannabinol
THCA	Ácido Δ^9 -tetrahydrocannabinólico
TRPV1	Receptor de potencial transitório vaniloide tipo 1
UDS	Síntese de DNA não programada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVO.....	16
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	CANNABIS MEDICINAL	16
3.2	BOTÂNICA.....	20
3.3	FITOCANABINOIDES	21
3.4	SISTEMA ENDOCANABINOIDE	23
3.5	CRIMINALIZAÇÃO E LEGISLAÇÃO DE <i>C. SATIVA</i>	26
3.6	MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE	31
3.7	AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE <i>IN SILICO</i>	34
3.7.1	Método/modelagem QSAR/SAR	36
3.7.2	Modelagem de alerta estruturais.....	39
3.7.3	Método comparativo.....	40
4	MÉTODOS	41
5	RESULTADOS	42
5.1	CANABIDIOL	43
5.2	Δ^9 -TETRAHIDROCANABINOL	47
5.3	CANABICROMENO.....	51
5.4	CANABIGEROL.....	56
5.5	ÁCIDO CANABIGERÓLICO	63
6	DISCUSSÃO.....	63
7	CONCLUSÃO	77
	REFERÊNCIAS.....	79

1 INTRODUÇÃO

No passado, o gênero *Cannabis* (Cannabaceae) foi descrito com três espécies distintas: *C. sativa*, *C. indica* e *C. ruderalis* (Lapierre *et al.*, 2023). Contudo estas espécies não são geneticamente diferentes o suficiente para justificar a sua própria classificação taxonômica, dessa forma o consenso científico é que *Cannabis sativa* L. é uma única espécie monotípica do gênero *Cannabis*, que exibe uma ampla diversidade morfológica e química, em decorrência da reprodução seletiva e do cultivo humano, em vez de linhagens evolutivas distintas (Lapierre *et al.*, 2023; Basyal; Regmi, 2021).

Entre terpenos, compostos fenólicos, flavonoides e alcaloides, os fitocanabinoides constituem o maior grupo de moléculas bioativas encontradas na planta, e consequentemente o mais estudado devido à sua extensa variedade de efeitos farmacológicos (Andre; Hausman; Guerriero, 2016; Fasakin; Oboh; Ademosun, 2022).

O ácido canabigerólico (CBGA) possui efeito anti-inflamatório e é considerado mais potente que o canabidiol (CBD) na inibição de substâncias inflamatórias (Faouzi *et al.*, 2022). Além disso, o CBGA pode ser utilizado no controle do diabetes mellitus e na prevenção de problemas cardiovasculares associados ao diabetes tipo 2 (D'Aniello *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2015). Por fim, estudos sugerem que o CBGA, em sinergia com outros fitocanabinoides, pode induzir a morte de células cancerígenas *in vitro*, como no caso de células de câncer colorretal e leucemia (Nallathambi *et al.*, 2018; Scott *et al.*, 2013).

O Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), um dos fitocanabinoides majoritários na planta, é responsável pelos efeitos psicoativos característicos do uso adulto da planta, mas também possui propriedades úteis no tratamento de várias doenças, devido a sua ação analgésica, anticonvulsivante, estimulante do apetite, ansiolítica e indutora do sono (Paladini, 2023). Além disso, é um grande aliado no tratamento da dor neuropática, pois protege a neuroplasticidade (Paladini, 2023).

O CBD também pode ser utilizado por pacientes em quimioterapia para aliviar náuseas e vômitos (Paladini, 2023). Além disso, demonstra eficácia no tratamento de esclerose múltipla, aliviando dores e espasticidade, e em condições como epilepsia e dor crônica (Paladini, 2023). O CBD apresenta ainda propriedades ansiolíticas e antidepressivas, atribuídas à sua afinidade com o receptor 5-HT_{1A}, um subtipo de receptor de serotonina presente em regiões pré-sinápticas e pós-sinápticas (Melas *et al.*, 2021). A ativação desse receptor está associada ao mecanismo de ação de medicamentos ansiolíticos, antidepressivos e antipsicóticos (Campos *et al.*, 2012). Por isso, o CBD pode ser empregado como terapia complementar no

manejo de sintomas comportamentais em pacientes com Transtornos do Espectro Autista (TEA), caracterizados por irritabilidade, ansiedade, hiperatividade e distúrbios do sono (Barchel *et al.*, 2019).

Por fim, o CBD destaca-se pelo seu potencial neuroprotetor em doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson (Flores; Zamin, 2017). Ele pode reduzir a agitação psicomotora e retardar a progressão dessas condições ao modular a neuroinflamação, frequentemente observada na doença de Alzheimer, e ao neutralizar o estresse oxidativo causado por espécies reativas de oxigênio (EROs) (Paladini, 2023; Hermush *et al.*, 2022; Di Giacomo *et al.*, 2020).

O canabicromeno (CBC) apresenta propriedades analgésicas e anti-inflamatórias, atribuídas à sua afinidade com os receptores canabinoides do tipo 2 (CB2) (Maione *et al.*, 2011; Oláh *et al.*, 2016). Além disso, o CBC pode inibir a reabsorção da anandamida (AEA), prolongando os efeitos desse endocanabinoide, o que contribui para o alívio da dor e a melhora do humor (Maione *et al.*, 2011). Adicionalmente, o CBC pode desempenhar um papel significativo no tratamento de condições neurodegenerativas, pois estudos sugerem que ele promove a neurogênese (Shinjyo; Di Marzo, 2013). De acordo com Kollipara *et al.*, em um estudo realizado em 2023 sobre as propriedades anticonvulsivantes do CBC, foi demonstrado que o composto reduziu significativamente as convulsões em peixes-zebra, um modelo experimental utilizado para estudar crises convulsivas, sugerindo que o CBC pode atuar como um complemento aos tratamentos convencionais para essas condições (Kollipara *et al.*, 2023).

O canabigerol (CBG) demonstrou potencial anti-inflamatório ao reduzir a inflamação em doenças inflamatórias intestinais, como a colite, por meio do aumento na produção de antioxidantes endógenos e da redução de citocinas pró-inflamatórias (Nduma *et al.*, 2023). Além disso, o composto apresenta propriedades antibacterianas, demonstrando eficácia contra cepas resistentes, como o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), bem como contra bactérias gram-negativas, como *Neisseria gonorrhoeae*, e fungos, como *Candida albicans* (Abudalu *et al.*, 2023).

C. sativa pode ser considerada uma das plantas cultivadas mais antigas, amplamente utilizada por civilizações antigas, principalmente para fins medicinais e religiosos (Crocq, 2020). A China possui os primeiros registros documentados do uso medicinal da cannabis, cuja utilização remete a cerca de dois milênios a.C. (Crocq, 2020).

Com o aumento do uso recreativo de *C. sativa*, surgiram questões sociais e políticas, o que levou à sua classificação como droga ilícita em diversos países, devido aos seus efeitos psicoativos (Dall'agnol; Lobo, 2018). Em resposta a esse cenário, alguns países começaram a

reavaliar suas políticas proibitivas em relação ao uso medicinal de *Cannabis*, optando por legalizar e regulamentar seu uso em vez de mantê-lo proibido (Žigić *et al.*, 2021). No entanto, muitos países ainda impõem severas penalidades para o cultivo de *C. sativa* (Žigić *et al.*, 2021).

Compostos derivados de *C. sativa*, como por exemplo o CBD, THC, CBC, CBG e o CBGA, são substâncias conhecidas por agirem no sistema endocanabinoide, presente no sistema nervoso central e periférico e em outros sistemas, participando da homeostase do organismo (Corroon; Felice, 2019).

Essas substâncias podem servir como alternativas terapêuticas, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida de pessoas com transtornos de saúde mental, distúrbios neurológicos, doenças autoimunes e condições associadas à dor (Corroon; Felice, 2019).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, uma planta medicinal é definida como qualquer vegetal que contém, em um ou mais de seus órgãos, substâncias que podem ser utilizadas para fins terapêuticos (OMS, 1998).

Embora derivados de *C. sativa* sejam considerados “produtos naturais”, e o uso de plantas medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças seja uma das práticas terapêuticas mais antigas da humanidade, isso não elimina os riscos associados ao seu uso descontrolado ou à sua combinação com medicamentos produzindo interações medicamentosas (Silva, 2016). Por isso, devem haver mais estudos para averiguar os potenciais efeitos toxicológicos que a planta possa apresentar, para que os prescritores tenham maior respaldo e possam prescrever cannabis com mais segurança (Hill; Palastro, 2017).

Os estudos *in silico*, ou seja, os modelos computacionais e matemáticos, vem sendo utilizados na avaliação de toxicidade como uma forma de otimizar o tempo e os custos dos ensaios, diminuir a quantidade de solventes descartados e moderar a quantidade de animais eutanasiados (Dias, 2018).

A avaliação de toxicidade *in silico* faz uso de abordagens preditivas com fundamentação científica e metodológica (Santos, 2011; Brito, 2011). Aplicando estratégias como QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*, relação estrutura-atividade quantitativa) e a dose-efeito para a avaliação de toxicidade é possível realizar uma triagem (*screening*) mais rigorosa sobre efeitos mutagênicos e teratogênicos, por exemplo, para que casos como o desastre da talidomida, que afetou milhares de crianças nas décadas de 1960 a 1980, não voltem a acontecer (Santos, 2011; Brito, 2011).

Assim, este projeto visa realizar a avaliação de toxicidade *in silico* de fitocanabinoides de *C. sativa*.

Este ensaio irá colaborar para o entendimento do potencial desses compostos em causar eventos adversos e a gravidade destes eventos. A triagem de efeitos realizada utilizando este método poderá prever efeitos tóxicos que deverão ser observados posteriormente em ensaios não clínicos, ou mesmo, dependendo da probabilidade de ocorrência e da gravidade do efeito, evitando que estes compostos sejam utilizados como modelos no desenvolvimento de fármacos.

2 OBJETIVO

Avaliar a toxicidade aguda e crônica, a mutagenicidade e carcinogenicidade dos fitocanabinoides de *C. sativa* (CBD, THC, CBC, CBG e CBGA) por meio de ferramentas *in silico*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 CANNABIS MEDICINAL

O uso mais antigo registrado de *Cannabis sativa* para fins terapêuticos ocorreu na China, onde sua aplicação medicinal foi descrita na Pen-ts'ao Ching, considerada a farmacopeia mais antiga do mundo (Diniz *et al.*, 2024). Esse compilado reúne conhecimentos baseados em tradições orais transmitidas desde a época do Imperador Shen-Nung, datando aproximadamente de 2.700 a.C. (Zuardi, 2006).

Na medicina tradicional indiana, dentro do sistema ayurvédico, cannabis era considerada uma das “cinco plantas sagradas”, sendo vista como fonte de felicidade e símbolo de liberdade (Charitos *et al.*, 2021). Seu uso terapêutico incluía o alívio de dor, como dores de cabeça e de dente, tratamento de epilepsia, doenças inflamatórias e respiratórias, como bronquite e asma, além de ser utilizada como calmante em pacientes com ansiedade (Charitos *et al.*, 2021).

O Papiro Ebers, datado de cerca de 1550 a.C., é um dos documentos médicos mais antigos do Egito, seu conteúdo menciona os conhecimentos dos herbalistas egípcios, incluindo o uso de extratos de cannabis (Charitos *et al.*, 2021).

Devido a um estigma associado a planta e as políticas de combate as drogas no século XX, o uso medicinal de cannabis foi interrompido em muitos lugares, o que teve um impacto negativo nas pesquisas e uso (Saad, 2019).

Apesar disso, o interesse pela cannabis medicinal vem crescendo, impulsionado por pesquisas científicas cada vez mais numerosas e pelos resultados clínicos que reforçam as evidências dos benefícios da planta (Abyadeh *et al.*, 2021). Esses estudos têm mostrado resultados promissores, especialmente no tratamento de condições como esclerose múltipla e doença de Parkinson (Abyadeh *et al.*, 2021).

Apesar de cannabis e os fitocanabinoides serem amplamente utilizados de forma medicinal e diversos estudos indicarem que a planta possui efeitos terapêuticos em comparação com placebos, as evidências clínicas de eficácia ainda permanecem limitadas, pois, muitos dos efeitos adversos conhecidos da cannabis medicinal são derivados de usuários recreativos da cannabis, como perda da coordenação motora, paranoia e bronquite crônica (Bridgeman; Abazia, 2017).

Uma revisão sistemática de ensaios realizados ao longo de 40 anos sobre o uso de medicamentos à base de canabinoides, que incluiu 23 ensaios clínicos randomizados e 8 estudos observacionais, revelou que, nos ensaios randomizados, a duração média da exposição à planta foi de duas semanas, variando entre oito horas e 12 meses (Wang *et al.*, 2008). No total 4.779 efeitos adversos foram reportados, sendo que 4.615 foram considerados não graves (96,6%) (Wang *et al.*, 2008).

Os efeitos adversos graves mais frequentemente relatados, foram esclerose múltipla recorrente (12,8%; 21 eventos), vômitos (9,8%; 16 eventos) e infecções do trato urinário (9,1%; 15 eventos), entretanto o efeito adverso não grave mais frequente foi tontura (15,5%; 714 eventos) (Wang *et al.*, 2008).

Em contrapartida, em uma revisão de 23 ensaios clínicos randomizados realizados para atestar a eficácia e a segurança do dronabinol (THC sintético), um medicamento antiemético aprovado no Estados Unidos da América (EUA), foi demonstrado que os indivíduos que receberam o medicamento tiveram menos náuseas e vômitos comparados com aqueles que receberam o placebo, ainda, os que receberam o produto a base de cannabis relataram efeitos adversos como tontura, sedação, disforia e euforia (Bridgeman; Abazia, 2017).

A primeira forma farmacêutica sólida introduzida no mercado farmacêutico com ação de antagonismo seletivo sobre os receptores CB1 foi o rimonabanto (Accomplia®), desenvolvido pela Sanofi (Villa; Perassolo; Suyenaga, 2015). Esse medicamento foi lançado com o objetivo de auxiliar no emagrecimento, pois ao antagonizar o receptor CB1, aumenta a

expressão e liberação de adiponectina, um hormônio produzido pelo tecido adiposo que promove a redução do peso corporal (Abreu, 2011).

No entanto, havia poucos ensaios clínicos que comprovassem sua eficácia e segurança, e faltavam dados sobre os efeitos a longo prazo (Moreira; Lutz, 2008). De fato, o medicamento era conhecido por induzir efeitos adversos psiquiátricos significativos, conforme demonstrado em ensaios *in vivo*, o que levou à sua retirada do mercado (Moreira; Crippa, 2009).

Os mecanismos que levam ao aumento da ansiedade e depressão pelo bloqueio dos receptores CB1 ainda não são completamente compreendidos (Moreira; Lutz, 2008). Uma hipótese é que os endocanabinoides mantêm o equilíbrio entre os neurotransmissores excitatórios (glutamato) e inibitórios (ácido gama-aminobutírico - GABA), logo, o bloqueio dos receptores CB1 poderia causar um desequilíbrio nesse sistema (Moreira; Lutz, 2008).

O dronabinol (Marinol®) e a nabilona (Cesamet®), ambos em forma de cápsulas, contêm formas sintéticas de THC. A nabilona apresenta modificações estruturais que a diferenciam do THC natural, mas ambos atuam ativando diretamente os receptores CB1. Essas substâncias são indicadas principalmente para pacientes em quimioterapia, proporcionando alívio de náuseas e estimulando o apetite (Pamplona, 2014).

O THC de origem vegetal é classificado como uma substância de classe I sob a lei de substâncias controladas pela DEA (*Drug Enforcement Administration*) e reguladas pelo FDA (*Food and Drug Administration*), juntamente com a heroína e o LSD, ou seja, são substâncias com alto potencial de abuso e sem uso médico aprovado pelo governo federal dos EUA (FDA, 1974).

A exceção são produtos farmacêuticos contendo THC sintético, como o dronabinol, aprovados pelo FDA para tratar náuseas e perda de apetite, classificado como classe III, onde o potencial terapêutico é reconhecido e a capacidade de causar dependência é de moderado a baixo, logo a comercialização é permitida, mas somente com prescrição médica (FDA, 1974).

Além disso, produtos derivados de cannabis com baixo teor de THC (menos de 0,3%), como o cânhamo industrial e o CBD extraído dele, foram legalizados pelo *Farm Bill* de 2018 – uma legislação abrangente dos EUA que regulamenta e financia áreas relacionadas à agricultura, alimentação e desenvolvimento rural (Hudak, 2018). A partir dessa mudança, o cultivo, transporte e venda de produtos derivados do cânhamo passaram a ser permitidos, e esses produtos foram excluídos da classificação de substâncias controladas de classe I (Hudak, 2018). No entanto, a venda desses derivados é permitida apenas sob regulamentação rigorosa (Hudak, 2018).

Além disso, em 2003 foi introduzido na Holanda o Bedrocan[®], um produto padronizado de cannabis, indicado para vômitos associados a quimioterapia, perda de peso, dor neuropática associado ao HIV/AIDS, dor crônica, glaucoma e esclerose múltipla, com composição química definida (22% de THC e <1,0% de CBD, além do perfil de terpenos) (Bedrocan, 2014; Pamplona, 2014).

Somado a isso, outras linhas foram desenvolvidas, comercializadas em sua maioria como inflorescências secas, contendo composições de THC e CBD distintas, de forma a atender todas as necessidades dos pacientes, entre elas o Bedrobinol[®] (13,5% de THC e <1,0% de CBD), Bediol[®] (6,3% de THC e 8% de CBD), Bedica[®] (14% de THC e <1,0% de CBD) e o Bedrolite[®] (<1,0% de THC e 7,5% de CBD) (Bedrocan, 2014).

Ainda, pode ser recomendado aos pacientes fumar, vaporizar ou preparar comestíveis em base oleosa, sendo que para a administração pulmonar o ideal é fazer a troca do cigarro de cannabis para vaporizadores com regulação da temperatura, de forma a maximizar a volatilização dos fitocanabinoides e minimizar a produção dos produtos cancerígenos derivados da fumaça formada (Celestino; Marconato; Lopes, 2021). A combustão da cannabis inalada pode causar efeitos semelhantes aos da fumaça do cigarro, incluindo bronquite crônica e inflamação das vias aéreas, além de sintomas advindos da contaminação por metais pesados, bactérias patogênicas ou pesticidas que a erva cultivada de modo ilegal pode apresentar devido à falta de controle de qualidade (Volkow *et al.*, 2014; Russo, 2016).

É importante ressaltar que o Sativex[®] foi introduzido no mercado do Reino Unido em 2010 (Sativex, 2022). Trata-se de um medicamento com concentrações controladas de THC e CBD, apresentado na forma de extrato hidroalcoólico para pulverização bucal, indicado para o tratamento de adultos com espasticidade moderada a grave causada pela esclerose múltipla, especialmente em casos que não responderam a outros medicamentos antiespasmódicos (Sativex, 2022).

Dessa forma, o Sativex[®] foi o primeiro medicamento à base de *C. sativa* registrado no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) em 2017, sob o nome comercial de Mevatyl[®], composto por 27 mg/ml de THC e 25 mg/ml de CBD, sendo comercializado com tarja preta e dispensado apenas mediante prescrição médica, conforme notificação de receita tipo A, prevista na Portaria SVS/MS nº 344/1998, além de exigir um Termo de Consentimento Informado pelo paciente (Brasil, 2022).

Por fim, a proibição arbitrária de cannabis, e consequentemente da cannabis medicinal, é amplamente criticada, pois sua classificação parece estar mais fundamentada no contexto social do uso — historicamente associado a populações marginalizadas, especialmente

afro-brasileiros e nordestinos, no século XX — do que em seu real potencial de causar danos ou dependência (Pamplona, 2014; Carneiro, 2019).

Enquanto isso, substâncias comprovadamente mais prejudiciais, como o álcool, que está diretamente relacionado a graves acidentes de trânsito e violência doméstica, permanecem lícitas (Carneiro, 2019).

No Brasil, a proibição do cultivo de *Cannabis* não apenas dificulta o acesso a medicamentos derivados, mas também contribui para custos elevados devido à necessidade de importar o produto final ou realizar processos complexos de registro e autorização, enquanto a cannabis vendida no tráfico pode ser de baixa qualidade, possivelmente contaminada e sem padronização (Pamplona, 2014).

Aqueles que recorrem à justiça para obter autorização para a importação de produtos à base de CBD ou de extratos de *C. sativa* enfrentam um processo longo, burocrático, caro e incerto, o que torna o uso de cannabis pouco acessível, ferindo o direito constitucional à saúde, já que o custo médio de uma caixa do medicamento pode chegar a R\$ 3 mil, inviabilizando o tratamento para pessoas de baixa renda (Brasil, 2021).

Diante do exposto, interessados em utilizar a cannabis medicinal podem se filiar a associações civis sem fins lucrativos que, sob autorizações judiciais, cultivam *C. sativa*, oferecendo a planta ou seus derivados aos associados, mediante prescrição médica (Brasil, 2021).

Entre elas estão: a Associação Brasileira Cannabis Esperança (Abrace), na Paraíba; a Associação de Apoio à Pesquisa e a Pacientes de Cannabis Medicinal (APEPI), no Rio de Janeiro; e as associações Cultive e Associação Terapêutica Cannabis Medicinal Flor da Vida, ambas no estado de São Paulo (Brasil, 2021).

3.2 BOTÂNICA

A planta cannabis pertence à família Cannabaceae, ao gênero *Cannabis* e a espécie *Cannabis sativa* L., porém existem controvérsias na classificação da taxonomia da planta (Chandra et al., 2017).

Devido à domesticação ao longo dos anos, cannabis passou a apresentar diferentes morfologias e composições químicas, assim, alguns autores a caracterizam o gênero *Cannabis* como politípico, com mais de uma espécie, enquanto outros consideram monotípico, com uma única espécie, mas com alto grau de polimorfismo (Chandra et al., 2017).

Apesar disso, cannabis é considerada como uma única espécie, porém altamente diversa, e as espécies *C. indica* e *C. ruderalis* são variedades da *C. sativa* (Elsohly *et al.*, 2017).

C. sativa possui floração anual movida por fotoperíodo, é raramente monoica, com flores (inflorescências) de ambos os sexos na mesma planta e predominantemente dióica, ou seja, apresenta inflorescências masculinas e femininas em plantas separadas (Borille, 2016).

As plantas femininas são responsáveis por produzir inflorescências com alto teor de THC, enquanto as masculinas contribuem apenas para a reprodução da espécie por meio da produção de pólen, morrendo logo após esse processo (Bonini *et al.*, 2018).

Os tricomas glandulares são apêndices epidérmicos característicos de famílias como a Cannabaceae (Nascimento, 2017). Sua principal função é a produção e o armazenamento de compostos bioativos, como fitocanabinoides e terpenos, que desempenham papéis essenciais na defesa da planta contra insetos, patógenos, radiação ultravioleta e outros estresses ambientais, além de contribuir para a atração de animais polinizadores (Souza, 2022; Bonini *et al.*, 2018). Esses tricomas estão concentrados principalmente nas inflorescências femininas, em maior quantidade do que nas masculinas, e também podem ser encontrados nas brácteas e folhas da planta (Nascimento, 2017).

Os aquênios, usualmente chamados de “sementes”, possuem formato oval, unido ao pericarpo em apenas um ponto, de coloração acastanhada e são produzidos somente pelas inflorescências femininas (Small, 2015).

3.3 FITOCANABINOIDES

Ao longo dos anos uma variedade de compostos de uma vasta natureza química fora identificada em *C. sativa*, totalizando mais de 500 metabólitos secundários, como flavanoides, terpenos, esteroides, alcaloides, fitocanabinoides e hidrocarbonetos (Kopustinskiene, *et al.*, 2022).

Os fitocanabinoides são terpeno-fenólicos formados em sua ampla maioria por 21 carbonos (ou 22 carbonos nas formas carboxiladas), derivados do ácido olivetólico resultante da via policetílica, e do geranil difosfato derivado da via do mevalonato (Hanuš *et al.*, 2016).

A biossíntese dos fitocanabinoides, assim como a dos terpenos, acontece em células secretoras no interior dos tricomas glandulares, presente em sua maioria nas inflorescências femininas e em menor quantidade nas inflorescências masculinas (Tahir *et al.*, 2021).

A via da biossíntese vegetal começa quando o ácido olivetólico e o geranil difosfato, conhecidos por originar terpenos, sofrem ação da prenilase e olivetolato geraniltransferase formando o CBGA (Elsohly *et al.*, 2017).

O CBGA por sua vez sofre ciclização pela oxidase dependente do dinucleotídeo de flavina e adenina (FAD), gerando os produtos ácido Δ^9 -tetrahydrocannabinólico (THCA), ácido canabidiólico (CBDA) e ácido canabícromênico (CBCA) (Hanuš *et al.*, 2016).

Os fitocanabinoides ácidos representam as formas inativas encontradas na planta, no entanto esses compostos sofrem descarboxilação, um processo desencadeado pela exposição à luz, pelo envelhecimento natural da planta ou pelo aquecimento, perdendo o grupo carboxila, convertendo os fitocanabinoides ácidos em suas formas ativas, como THC, CBD e CBC, que são amplamente reconhecidas por suas propriedades farmacêuticas (Small, 2015; Zaharia *et al.*, 2020).

C. sativa demonstra uma notável plasticidade fenotípica adaptativa, o que contribuiu para sua ampla distribuição geográfica e domesticação ao longo do tempo por diversas civilizações (Small, 2015). Por essas razões, a planta expressa diferentes fenótipos químicos, tanto selvagens quanto mutantes, chamados de quimiotipos ou quimiovariantes, nos quais cada variedade apresenta uma singularidade distinta e/ou competência para converter o CBGA, precursor comum dos fitocanabinoides, em diferentes concentrações de THC e CBD, a depender do quimiotipo (Onofri; Meijer; Mandolino, 2015).

Além das condições ambientais e fatores genéticos, o perfil de fitocanabinoides pode variar entre os quimiotipos de acordo com a maturidade da planta e etapas de coleta e processamento, dessa forma é essencial ter condições controladas na cadeia produtiva afim de obter uma constância de composição dos fitocanabinoides (Sarma *et al.*, 2020; Potter, 2013).

Em estudo clínicos, o CBD demonstrou possuir atividade anticonvulsivante, analgésica, anti-inflamatória, antiemética, relaxante muscular, ansiolítica e antipsicótica, além disso, estudos recentes sugerem que o CBD seria capaz de inibir a replicação do vírus SARS-CoV-2 em células do epitélio pulmonar de humanos e camundongos (Kowal; Hazekamp; Grotenhermen, 2016; Nguyen *et al.*, 2022).

O THC é o principal componente psicoativo da planta, com propriedades semelhantes ao CBD, como efeitos neuroprotetores, anti-inflamatórios, antioxidantes, anticonvulsivantes e analgésicos, bem como efeitos antieméticos e estimulante de apetite, eficaz no tratamento do câncer (Coles; Steiner-Lim; Karl, 2022; Alvarado; Sánchez; Salcedo, 2017).

No entanto, mais pesquisas são necessárias para entender melhor os efeitos terapêuticos do THC, especialmente no que diz respeito à dosagem e aos possíveis efeitos

adversos (Coles; Steiner-Lim; Karl, 2022). Além disso, estudos indicam que a combinação de THC com outros fitocanabinoides pode gerar resultados mais significativos do que o uso isolado do composto (Alvarado; Sánchez; Salcedo, 2017).

Ademais, evidências indicam que o uso frequente e prolongado de altas doses de THC pode levar ao usuário a dependência física e psicológica, e quando interrompido é capaz de ocasionar sintomas de abstinência como irritabilidade, insônia, disforia e ansiedade, colaborando para a reincidência ao consumo (Volkow *et al.*, 2014).

O CBD é um candidato promissor para o tratamento de diversas patologias, graças a suas características já conhecidas, como suas propriedades neuroprotetoras, que o tornam favorável para o tratamento de doenças associadas à inflamação e ao estresse oxidativo, como a doença de Alzheimer (Watt *et al.*, 2017). Além disso, suas propriedades anticonvulsivantes destacam o CBD como uma opção eficaz no tratamento da epilepsia e outros distúrbios convulsivos, tornando-o uma alternativa promissora em várias áreas terapêuticas (Franco; Perucca, 2019).

Ainda, estudos revelam que o CBD pode ser útil no tratamento da ansiedade, esquizofrenia e dor neuropática, devido a características ansiolíticas, antipsicóticas e analgésica do canabinoide (Glória *et al.*, 2020).

Embora o CBD e o THC compartilhem muitos efeitos terapêuticos, eles diferem significativamente em relação aos efeitos adversos (Atakan, 2012). O CBD, isoladamente, não induz os mesmos efeitos negativos associados ao THC, como a perda de memória de curto prazo, no entanto, estudos indicam que o CBD pode atuar como um modulador dos efeitos do THC, ampliando suas aplicações terapêuticas, especialmente no tratamento de condições como dor crônica, sem intensificar efeitos adversos como o comprometimento cognitivo (Atakan, 2012; Cascorbi, 2023; Winstone *et al.*, 2023).

Ao contrário do THC, estudos em humanos e animais indicaram que o CBD dispõe de propriedades ansiolíticas e antipsicóticas, prevenindo também os possíveis surtos psicóticos decorrentes do uso do THC (Atakan, 2012).

3.4 SISTEMA ENDOCANABINOIDE

O sistema endocanabinoide (ECS) é uma complexa rede neuromoduladora, descoberta por Devane *et al.*, após Mechoulam e Gaoni determinarem, em 1964, a estrutura do principal fitocanabinoide psicoativo, o THC (Crocq, 2020).

O ECS é composto por canabinoides endógenos (EC), como a AEA, 2-araquidonoil glicerol (2-AG) e derivados do ácido araquidônico (AA), receptores canabinoides e proteínas responsáveis pela síntese, degradação e transporte dos endocanabinoides (Lu; Mackie, 2021).

Os receptores canabinoides tipo 1 (CB1) e tipo 2 (CB2) são receptores acoplados à proteína G (GPCRs) e, portanto, têm a capacidade de hiperpolarizar a membrana celular ao inibir a adenilato ciclase e os canais de cálcio sensíveis à voltagem (CCV) e ativar canais de potássio retificadores de entrada sensíveis a proteína G (GIRKs), efeitos similares aos mediados por receptores opioides (Ritter *et al.*, 2020).

Além disso, esses receptores influenciam a expressão gênica de duas maneiras: diretamente, ao estimular a proteinoquinase ativada por mitógenos (MAPK), e indiretamente, ao reduzir a atividade da proteinoquinase A (PKA) através da diminuição da atividade da adenilato ciclase (Ritter *et al.*, 2020).

Os receptores CB1 estão predominantemente localizados nos neurônios pré-sinápticos e inibem a liberação de transmissores, especialmente no hipocampo e no cerebelo, em áreas responsáveis pela regulação de funções cognitivas, motoras e emocionais (Sim-Selley, 2003). Por essa razão, sugere-se que o ECS pode influenciar a memória, o aprendizado e a coordenação motora (Sim-Selley, 2003). Já os receptores CB2 são expressos majoritariamente em tecidos imunológicos (Saito; Wotjak; Moreira, 2010).

Os endocanabinoides principais, AEA e 2-AG, são lipídeos sinalizadores responsáveis pela regulação do sistema endocanabinoide, ao transmitir sinais e modular funções fisiológicas (Kohnz, 2014). A AEA, também conhecida por “substância da felicidade”, foi o primeiro endocanabinoide descoberto como agonista de receptores canabinoides, isolado a partir de cérebro de porco em 1992 por William Devane e colaboradores (Scherma *et al.*, 2019; Zou; Kumar, 2018). Estudos indicam que a AEA exerce um efeito modulador nos mecanismos de recompensa do cérebro, promovendo sensações de prazer e bem-estar, assim como exerce um papel modulador de alguns processos fisiológicos, incluindo inflamação e dor, apetite e humor (Scherma *et al.*, 2019).

Já o 2-AG foi o segundo endocanabinoide descoberto, isolado do cérebro de rato e intestino de cães, e é o endocanabinoide mais abundante no cérebro, por isso, propõe-se que o 2-AG seja o principal ligante endógeno para os receptores canabinoides (Scherma *et al.*, 2019; Zou; Kumar, 2018). Em contraste, a AEA ativa o receptor de potencial transitório vaniloide tipo 1 (TRPV1), que está presente nos nociceptores e desempenha um papel importante na percepção da dor (Scherma *et al.*, 2019; Zou; Kumar, 2018). O 2-AG exerce efeitos fisiológicos

como regulação do apetite, neuroinflamação, dependência, ansiedade e dor, além disso, possui afinidade com outros receptores, como o GABA (Baggelaar; Maccarrone; Stelt, 2018).

Tanto a AEA quanto o 2-AG são produzidos sob demanda após a ativação dos neurônios, desempenhando um papel importante na modulação da sinalização neuronal, por essa razão, eles não são armazenados em vesículas, ao contrário dos neurotransmissores clássicos, como a acetilcolina (Avelar; Takahashi; Junior, 2023).

Esses endocanabinoides são sintetizados nos neurônios pós-sinápticos após o influxo de cálcio (Zou; Kumar, 2018). A AEA é produzida principalmente a partir da *N*-acil-fosfatidiletanolamina (NAPE) por meio da ação da fosfolipase D específica de NAPE (Zou; Kumar, 2018). Em contrapartida, o 2-AG é biossintetizado a partir do diacilglicerol (DAG) pela DAG lipase α ou β (DAGL) (Zou; Kumar, 2018).

Após a síntese, as moléculas de endocanabinoides difundem-se através das membranas plasmáticas a favor do gradiente de concentração (Ritter *et al.*, 2020). Quando presente na fenda, são capazes de se acoplarem nos receptores CB1 pré-sináptico, iniciando a sinalização retrógrada (Egertová *et al.*, 1998). No terminal pré-sináptico, o endocanabinoide se liga ao receptor CB1, o que inibe a liberação de neurotransmissores ao suprimir o influxo de Ca^{2+} controlado por voltagem ou ao inibir a adenilato ciclase, afetando, assim, a via cAMP/PKA, que está envolvida na depressão a longo prazo (Zou; Kumar, 2018).

A AEA também desempenha um papel na sinalização retrógrada, ativando não apenas o receptor CB1, mas também o TRPV1, que provoca efeitos ansiolíticos observados em baixas doses (Moreira *et al.*, 2007; Zou; Kumar, 2018).

A sinalização termina quando o 2-AG é degradado pela lipase monoacilglicerol (MAGL), em AA e glicerol e a AEA é hidrolisada pela enzima FAAH em AA e etanolamina (Moreira; Aguiar; Guimarães, 2007; Zou; Kumar, 2018).

Em adição, os receptores CB1 localizados nos astrócitos provocam a liberação de glutamato quando ativados pelo 2-AG, desempenhando um papel na memória do vício e no comprometimento da memória espacial induzida pela *Cannabis*, nos efeitos ansiolíticos, na depressão a longo prazo e no efeito neuroprotetor (Yin; Wang; Zhang, 2018)

Os canabinoides exógenos, como o THC e o CBD, são substâncias encontradas em *C. sativa*, e assim como os endocanabinoides, os fitocanabinoides também são capazes de modular o ECS, gerando um efeito antidepressivo, por exemplo (Hasbi; Madras; George, 2023; Ferber *et al.*, 2020).

O THC age como um agonista dos receptores CB1, e consequentemente influencia no equilíbrio GABA/glutamato, causando ainda a liberação de dopamina, ainda que em

quantidades menores quando comparado com substâncias de abuso, como a nicotina (Araújo; Almeida; Araújo, 2023). O THC também apresenta potencial analgésico devido a ligação com o receptor CB1, presente no sistema nervoso central no processamento da dor, e potencial anti-inflamatório pela sua ação agonista dos receptores CB2 (Araújo; Almeida; Araújo, 2023). Em contrapartida, o CBD atua como antagonista para os receptores CB1 e CB2, podendo atenuar os efeitos adversos cognitivos-comportamentais do THC e alterar a forma como os receptores respondem a outros canabinoides (Viegas Júnior; Franco, 2017; Marinho; Silva-Neto, 2023).

O "*efeito entourage*", também conhecido como efeito comitiva, ocorre quando os diversos compostos químicos da planta interagem de forma sinérgica, não apenas modulando possíveis efeitos adversos, mas também potencializando os benefícios terapêuticos (Anand *et al.*, 2021). Assim, ao utilizar medicamentos de “espectro completo” (*full spectrum*), que incluem o extrato integral da planta, é possível obter tratamentos com eficácia e segurança aprimoradas (Blasco-Benito *et al.*, 2018).

Estudos mostram que o extrato completo oferece resultados terapêuticos com doses até quatro vezes menores de CBD em comparação com o CBD isolado, evidenciando o papel sinérgico dos compostos de *C. sativa* (Pamplona, Silva, Coan, 2018).

Além disso, o CBD pode interagir com outros receptores, como os serotoninérgicos, desempenhando um papel na redução da excitotoxicidade, do estresse oxidativo e da ativação pró-inflamatória (Araújo; Almeida; Araújo, 2023). Isso sugere uma possível ação protetora do CBD em doenças neurodegenerativas, como a doença de Parkinson e o mal de Alzheimer (Araújo; Almeida; Araújo, 2023).

Portanto, drogas canabimiméticas como agonistas ou antagonistas dos receptores canabinoides podem ser delineadas como alvos da farmacoterapia de forma a abranger o ECS e suas enzimas ao aumentar ou inibir a atividade dos endocanabinoides, tratando assim uma ampla gama de doenças, tais como dores em geral, transtornos de humor e ansiedade, obesidade/síndrome metabólica, osteoporose, doenças neuromotoras, neuropsicológicas e neurodegenerativas, doenças respiratórias como asma e doenças cardiovasculares como aterosclerose (Lowe *et al.*, 2021).

3.5 CRIMINALIZAÇÃO E LEGISLAÇÃO DE *C. SATIVA*

Movimentos proibicionistas das drogas são frequentemente analisados por sociólogos como exemplos de “empreendedores morais” ou “reformadores cruzados”, termos

cunhados por Howard Becker (2008). Esses conceitos referem-se a indivíduos situados nas camadas superiores da hierarquia social, que, motivados por razões humanitárias, buscam “ajudar” aqueles que estão em posições sociais inferiores a alcançarem uma condição melhor (Becker, 2008). Esses “empreendedores morais” acreditam que seus valores são universais e, por isso, impõem suas regras e promovem cruzadas éticas a pessoas que pensam de forma diferente ou que possuem menor poder econômico, ignorando se esses indivíduos realmente desejam ou necessitam dessa “salvação” imposta (Silva, 2015).

Becker observou que certas pessoas são mais facilmente rotuladas como criminosas pelas instâncias de controle social formal — como a polícia e o sistema judiciário — em comparação a outras que raramente recebem essa “etiqueta” (Becker, 2008; Sell, 2007). Isso revela que a aplicação dessas regras não é neutra, mas estigmatizada e seletiva, assim, essa seletividade foi descrita por Becker na teoria do “*labelling approach*”, ou “teoria do etiquetamento” (Becker, 2008; Sell, 2007).

No estudo de Becker (2008), ele descreve que, ao receber o rótulo de desviante após cometer um ato considerado fora das normas da sociedade, o indivíduo passa por uma série de “cerimônias degradantes”, que incluem ser visto sendo levado pela polícia, sofrer violência policial ou ser encarcerado, o que dá início ao processo de estigmatização, que marca o indivíduo e o isola da sociedade, levando-o, muitas vezes, a buscar a companhia de outros criminosos com os quais passa a se identificar. Esse processo de estigmatização facilita a ocorrência do que Becker (2008) chama de “desvio secundário”, em que o indivíduo, ao ser segregado e rotulado, acaba cometendo novos atos desviantes.

Assim, inicia-se sua “carreira criminal”, em um processo conhecido como “*role engulfment*” (imersão no papel), onde a pessoa internaliza o papel de criminoso que a sociedade tanto lhe atribuiu, dessa forma, acontece a profecia autorrealizável: tanto se dizia que o sujeito era um criminoso, que ele acaba por se tornar um (Becker, 2008).

A política dos 4D’s (descriminalização, diversificação, devido processo legal e descarcerização) surge como uma resposta à teoria do etiquetamento, com o objetivo de impedir que indivíduos ingressem na carreira criminal (Aguilar, 2021).

A descriminalização visa remover a ilicitude de certos atos, especialmente aqueles que não envolvem violência e afetam apenas a moralidade pessoal dos indivíduos, como o uso de drogas (Aguilar, 2021). Já a diversificação propõe soluções menos severas para atos ilícitos, buscando evitar que, por exemplo, jovens infratores entrem em contato com o sistema penal, o que poderia desencadear o desvio secundário, enquanto a descarcerização incentiva a aplicação de penas alternativas à prisão, reservando as penas privativas de liberdade apenas para crimes

mais graves (Aguilar, 2021). Por fim, o devido processo legal garante que o indivíduo, ao passar pelas instâncias de controle social formal, seja tratado com respeito e dignidade, evitando as chamadas “cerimônias degradantes” que reforcem o estigma e o isolamento (Aguilar, 2021).

O proibicionismo moderno surgiu em um contexto onde o uso de substâncias atualmente classificadas como drogas, já era comum em celebrações religiosas, culturais e em tratamentos medicinais (Silva, 2015). Esse movimento ganhou força nos Estados Unidos durante a Reforma Moral puritana, onde o governo associava o uso de drogas a minorias, grupos marginalizados e imigrantes, definidos por classe social, religião e raça (Dall’agnoL; Lobo, 2018). Assim, o proibicionismo carrega traços marcantes de xenofobia e racismo, pois as drogas eram frequentemente ligadas a grupos considerados moral e economicamente inferiores (Dall’agnoL; Lobo, 2018; Silva, 2015).

Em 1912, a Convenção Internacional do Ópio foi assinada por 12 países, com o objetivo de controlar a produção e comercialização de morfina, heroína e cocaína (Diehl; Pillon, 2020). Posteriormente, os Estados Unidos propuseram que a resina de cannabis e seus derivados, como haxixe e diamba, fossem incluídos na Convenção Internacional do Ópio e criminalizados (Diehl; Pillon, 2020).

No entanto, essa proposta enfrentou resistência, especialmente da Índia, devido ao uso tradicional de cannabis em práticas religiosas e sociais e embora a recomendação não tenha sido incluída no tratado final, a exportação do cânhamo indiano para países onde era proibido foi restringida, sendo permitida apenas para fins medicinais e científicos (Diehl; Pillon, 2020).

Em 1961, cannabis e seus derivados foram incluídos na lista de "narcóticos" da Convenção Única sobre Narcóticos (CUN), um marco no controle internacional de drogas ilícitas (UNODC, 1971).

Motivados pela preocupação com a saúde pública, os signatários adotaram uma política de "tolerância zero" ao uso e comércio dessas substâncias, punindo severamente os infratores, onde a cannabis foi classificada, junto com opioides como heroína e fentanil, como uma substância altamente perigosa, considerada "a erva maldita produtora da criminalidade" (Silva, 2015).

No Brasil, todas as convenções que o país era signatário foram internalizadas através de inúmeros decretos que sofreram muitas alterações como forma de acomodar novas condutas que passaram a ser consideradas ilícitas, como plantar qualquer substância entorpecente e preparar ou produzir substâncias capazes de causar dependência física ou psíquica (Brasil, 1938).

Segundo Bewley-Taylor; Blickman; Jelsma (2014), a primeira proibição ocorreu em 1830, no Rio de Janeiro, quando a Câmara Municipal publicou uma portaria proibindo a venda e o uso do "pito de pango", uma forma de consumo de cannabis geralmente utilizada em cachimbos de água (Bewley-Taylor; Blickman; Jelsma, 2014).

A introdução da cannabis no Brasil está diretamente associada aos escravos africanos, que a trouxeram para fins recreativos, religiosos e medicinais durante o período colonial, quando foram trazidos para trabalhar nas plantações de cana-de-açúcar, assim a substância tornou-se amplamente utilizada nos quilombos e, com o tempo, seu uso se espalhou também entre as populações indígenas (Bewley-Taylor; Blickman; Jelsma, 2014).

O uso da cannabis tornou-se uma forma de resistência cultural africana e foi integrado às práticas religiosas de matriz africana, como a umbanda e o candomblé, tal associação gerou a desaprovação da elite branca, que passou a promover discursos moralistas, alegando preocupações com o "bem-estar da raça brasileira" e classificando o consumo da cannabis como um vício (Bewley-Taylor; Blickman; Jelsma, 2014).

Em 1915, durante o Segundo Congresso Científico Pan-Americano em Washington, o psiquiatra e professor Rodrigues Dória descreveu esse vício como "pernicioso e degenerativo", afirmando que o ato de fumar cannabis representava uma espécie de "vingança dos derrotados" — negros "selvagens" contra brancos "civilizados" que os haviam escravizado (Barros; Peres, 2012).

A percepção de que a cannabis era "o ópio dos pobres", associada principalmente às classes mais baixas, ex-escravos e criminosos, influenciou fortemente o Brasil, levando à sua proibição definitiva em 1938, com a implementação da Lei de Entorpecentes (Barros; Peres, 2012).

Atualmente, a criminalização do consumo, produção e circulação de substâncias psicotrópicas é regulamentada pela Lei Federal 11.343, de 23 de agosto de 2006, que institui o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas (SISNAD) (Brasil, 2006). Esta lei estabelece políticas de prevenção ao uso de entorpecentes, reinserção social e medidas de repressão ao tráfico (Brasil, 2006). Para definir o que é considerado droga, substância entorpecente, psicotrópica ou precursora, a lei se baseia na Portaria nº 344 da Anvisa (Brasil, 1998).

Quando a Lei foi instituída, recebeu tanto críticas quanto elogios. Alguns destacaram a severidade das penas impostas para o crime de tráfico, enquanto outros elogiaram a decisão de isentar o usuário da pena privativa de liberdade quando o porte de entorpecente era de consumo próprio (TNI, 2015). No entanto, uma das principais críticas foi a falta de

critérios claros para diferenciar o usuário do traficante, levando a interpretações judiciais inconsistentes e ao aumento nas taxas de encarceramento (TNI, 2015).

Em 2024, o Supremo Tribunal Federal (STF) decidiu, em plenário, pela descriminalização do porte de cannabis para uso pessoal, embora continue sendo proibido fumar a droga em locais públicos (Brasil, 2024a). Com a nova decisão, é considerado usuário quem adquirir, guardar, depositar ou transportar até 40 gramas de *Cannabis sativa* ou seis plantas fêmeas (Brasil, 2024a). Assim, o porte de cannabis passa a ser uma infração administrativa, em vez de criminal, eliminando a possibilidade de penas como prestação de serviços comunitários e registros em antecedentes criminais (Brasil, 2024a).

No entanto, a polícia permanece autorizada a apreender a droga e conduzir o portador à delegacia, mesmo que a quantidade esteja dentro do limite permitido, especialmente quando houver indícios de tráfico, como variedade de substâncias apreendidas ou registros de transações comerciais (Brasil, 2024a).

O tráfico de drogas é considerado crime equiparado a hediondo, inafiançável, insuscetível de anistia ou graça, com penas de reclusão de 5 a 15 anos e multa de R\$ 500 a R\$ 1.500 dias-multa, sendo que a quantidade de droga apreendida só influencia na dosimetria da pena (Brasil, 2006).

Em 14 de novembro de 2024, a Anvisa aprovou a RDC 940/2024, que oficializou a 7ª edição da Farmacopeia Brasileira, incluindo a monografia de *Cannabis sativa* (Brasil, 2024b). Essa monografia tem como objetivo garantir o controle de qualidade da matéria-prima utilizada na produção de medicamentos à base de cannabis, ao estabelecer padrões mínimos de qualidade e segurança para as inflorescências femininas secas da planta (Abrace, 2024). Desenvolvida pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) em parceria com especialistas da Anvisa, sua publicação representa um marco técnico e científico, no entanto, o cultivo da planta permanece proibido no país, e os novos padrões se restringem à garantia da qualidade e segurança dos medicamentos, respeitando as regras já existentes sobre o cultivo e o uso da cannabis no Brasil (Abrace, 2024).

Em relação ao cultivo medicinal, o Superior Tribunal de Justiça (STJ) decidiu ser juridicamente possível a autorização sanitária para o plantio, cultivo e comercialização do cânhamo industrial — uma variedade de *Cannabis* com teor de THC inferior a 0,3% — destinado exclusivamente a fins medicinais e farmacêuticos (Brasil, 2024c). Essa decisão altera a interpretação da Lei 11.343/2006 (Lei de Drogas), que classifica o cânhamo industrial como uma droga capaz de causar dependência, no entanto, a autorização é limitada a pessoas

jurídicas, como empresas, associações de pacientes e organizações não governamentais (Brasil, 2024c).

No Brasil, o THC está classificado como uma substância psicotrópica proscrita na lista F2 da Portaria 344/98, que regula substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial, enquanto a planta *C. sativa* e seus derivados está na Lista E, que diz respeito a plantas proscritas (Brasil, 1998).

Já o CBD foi removido da lista de substâncias proibidas pela Anvisa e passou para a lista C1, de substâncias sujeitas a controle especial (Brasil, 1998). Isso permitiu a importação de medicamentos contendo CBD, beneficiando pacientes que usam *Cannabis* para melhorar sua qualidade de vida (Jesus *et al.*, 2017).

No Brasil, a regulamentação de cannabis para fins medicinais é abrangida por várias resoluções da Anvisa. A RDC 327/2019 estabelece os requisitos para a comercialização em farmácias e a produção de produtos à base de cannabis para uso medicinal (Brasil, 2019). Já a RDC 660/2022 define os critérios e os procedimentos para a importação de produtos derivados de cannabis, mediante prescrição de profissional (Brasil, 2022b).

Por fim, a RDC 659/2022 regula a importação e exportação de substâncias, plantas e medicamentos sujeitos a controle especial, com finalidade exclusiva de ensino e pesquisa, por meio de uma Autorização Especial Simplificada (AEP), válida por 2 anos (Brasil, 2022a).

3.6 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE

Para garantir a segurança dos medicamentos, são realizados testes *in vitro* e *in vivo* durante as fases não clínica e clínica do desenvolvimento de novos fármacos, com o intuito de identificar a toxicidade e possíveis efeitos adversos das drogas (Yang *et al.*, 2018).

No entanto, quando se utilizam modelos animais, os testes podem ser demorados e caros, além de levantarem questões éticas, o que torna o processo mais complexo e desafiador (Raies; Bajic, 2016).

A toxicidade refere-se a qualquer efeito indesejado ou adverso que uma substância pode causar, como carcinogenicidade ou genotoxicidade (Raies; Bajic, 2016). Ela pode ser medida de forma quantitativa (por exemplo, a dose letal média, DL₅₀) ou qualitativa, como uma classificação binária (tóxico ou não tóxico), ou ainda de maneira ordinal, categorizando-se em níveis de toxicidade, como baixa, moderada ou alta (Raies; Bajic, 2016).

Diversos fatores podem influenciar a toxicidade de uma substância, como a via de exposição (por exemplo, oral ou inalatória), a dose, a frequência de exposição (única ou repetida), a duração, além de fatores relacionados à absorção, distribuição, metabolismo e excreção (Raies; Bajic, 2016). As características biológicas do indivíduo, como gênero e idade, e as propriedades específicas da substância também desempenham um papel importante (Raies; Bajic, 2016).

Por isso, os testes de toxicidade são realizados em condições controladas, expondo animais de teste a diferentes concentrações do potencial tóxico (Klaassen *et al.*, 2012).

Os resultados de testes em modelos animais precisam ser extrapolados com cautela aos seres humanos, levando em conta diferenças biológicas entre as espécies (Greim; Snyder, 2019).

O teste de toxicidade aguda é o primeiro a ser realizado em um novo produto e consiste na administração de uma única dose da substância, por uma via previamente determinada, em um período inferior a 24 horas, em animais de uma ou mais espécies (Olson, 2014). Os animais são então monitorados por 14 dias, com foco no número de óbitos durante esse período e a partir desses dados, calcula-se a DL_{50} , que corresponde à dose necessária para provocar a morte de 50% dos animais (Olson, 2014).

Os testes de toxicidade subcrônica têm duração de 90 dias e são realizados em duas espécies diferentes, onde o objetivo é determinar o LOAEL, que corresponde à menor dose com efeito detectável, e o NOEL, a maior dose na qual não se observam efeitos adversos (Damiani *et al.*, 2021). Além disso, esses testes ajudam a identificar os órgãos que são afetados pela administração repetida da substância tóxica (Damiani *et al.*, 2021).

Três doses são administradas: uma de alta toxicidade, uma de baixa toxicidade e uma dose intermediária (Klaassen *et al.*, 2012). Os animais são monitorados quanto a quaisquer sinais de estresse durante o experimento, e ao final dos testes, os animais são sacrificados e os tecidos são coletados para estudos macroscópicos e microscópicos dos órgãos (Klaassen *et al.*, 2012).

Assim como o teste subcrônico, o teste de toxicidade crônica avalia os efeitos tóxicos resultantes de exposições prolongadas e de doses cumulativas de uma substância, além de permitir a avaliação do potencial carcinogênico do composto em questão (Moura *et al.*, 2012).

Normalmente, o ensaio de toxicidade crônica dura entre 6 meses e 2 anos e envolve cerca de 50 ratos e camundongos (Moura *et al.*, 2012). Ao final do experimento, tanto os animais que sobreviveram quanto os que faleceram durante o teste são examinados, tanto

macroscópica quanto microscopicamente, para identificar a presença de tumores benignos e malignos (Moura *et al.*, 2012).

Ainda, os testes citogenéticos são realizados para a identificação de agentes físicos, químicos ou biológicos que podem ser mutagênicos, carcinogênicos e/ou teratogênicos, podendo causar danos no material genético de seres vivos (Santos, 2006).

O DNA é o material genético dos organismos, onde a informação genética é gravada, e apesar de ter um mecanismo próprio de reparo e prevenção de falhas, ainda é possível sofrer mutações, devido a sua alta replicação durante o ciclo celular (Santos, 2006).

As mutações induzidas ocorrem quando organismos são expostos a agentes mutagênicos, resultando na alteração das sequências de pares de bases ou na incorporação incorreta de nucleotídeos, que se não reparadas no ciclo celular subsequente, tornam-se permanentes (Kohatsu; Shimabukuro, 2007). Além disso, os agentes mutagênicos podem provocar rearranjos cromossômicos, levando a pareamentos desiguais e causando aberrações cromossômicas, cujo acúmulo pode resultar no surgimento de câncer (Kohatsu; Shimabukuro, 2007).

Entre os testes de avaliação da mutagenicidade podemos citar o teste de Ames, que emprega linhagens mutantes de *Salmonella typhimurium* incapazes de biossintetizar histidina, logo não crescem em meios que não possuem o aminoácido, a menos que entrem em contato com agentes mutagênicos capazes de reverter o caráter auxotrófico da bactéria, passando a formar colônias no meio isento de histidina, à vista disso, a ação mutagênica do composto em questão pode ser determinada pela contagem de colônias por placa (Santos, 2006).

Outro teste amplamente utilizado para caracterizar a mutagenicidade é o teste do micronúcleo, que se formam nas células durante o ciclo celular, ocorrendo após eventos como quebras cromossômicas e rompimentos das fibras do fuso (Santos, 2006).

Esses eventos impedem que o cromossomo seja integrado ao núcleo principal, resultando na formação de um micronúcleo, que contém DNA separado do núcleo principal, mas é corado da mesma forma (Santos, 2006).

Ademais, a avaliação da toxicidade da reprodução e desenvolvimento é conduzida com o objetivo de analisar potenciais efeitos teratogênicos, ou seja, a capacidade da substância de causar malformações nos fetos em desenvolvimento (Klaassen *et al.*, 2012). Esta avaliação é realizada em duas principais etapas: (i) exposição de fêmeas prenhas à substância durante a gestação, que são observadas durante o período da gestação; (ii) acompanhamento dos fetos após o nascimento para detecção de anormalidade no desenvolvimento, estes continuam a ser estudados durante o desmame e a puberdade (Klaassen *et al.*, 2012).

A realização deste teste é de suma importância no desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que determinados compostos podem não apresentar a mutagenicidade de imediato (Gao *et al.*, 2020). Além disso, levando em conta a variabilidade genética, recomenda-se a realização de testes em diferentes espécies, assim é possível identificar os potenciais efeitos teratogênicos entre espécies, como, por exemplo, em ratos e camundongos (Gao *et al.*, 2020).

Vale lembrar o caso da talidomida, descoberta em 1953 pela empresa alemã Chemie Grünenthal (Moro *et al.*, 2017). A substância foi lançada no mercado sem que fossem realizados testes de toxicidade adequados, sem uma dose letal estabelecida e com estudos insuficientes sobre sua segurança em humanos e os efeitos a longo prazo (Moro *et al.*, 2017). Além disso, os estudos teratológicos eram limitados e realizados apenas em uma única espécie (Moro *et al.*, 2017).

Assim, começaram a surgir os “bebês da talidomida”, onde eram relatadas malformações congênitas, que incluíam diversos graus de focomelia (redução dos ossos longos dos membros) e raras malformações, como a amelia (ausência de membros) (Leandro; Santos, 2015).

3.7 AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE *IN SILICO*

Como mencionado, os ensaios com animais são caros, demorados e levantam questões éticas (Segall; Barber, 2014). Portanto, os métodos computacionais se apresentam como uma alternativa complementar aos testes de toxicidade *in vitro* e *in vivo*, ajudando a reduzir a necessidade de experimentos em animais, além de diminuir custos e economizar tempo, já que permitem analisar grandes volumes de dados de forma mais rápida e também podem ser realizados antes mesmo da síntese do fármaco (Zhang *et al.*, 2018).

A toxicologia *in silico* utiliza diversas ferramentas computacionais para prever, analisar e simular a toxicidade de fármacos, como os bancos de dados toxicológicos, que armazenam informações sobre as substâncias, como toxicidade, propriedades químicas e efeitos adversos (Madden *et al.*, 2020; Osman, 2022).

Existem múltiplos métodos para a predição da toxicidade das variadas substâncias e cada um deles possui vantagens, limitações, abrangência de aplicação e especificidade de interpretação (Raies; Bajic, 2016). A intenção é utilizar o método mais eficaz para o problema em questão, podendo ser utilizado mais de um método (Raies; Bajic, 2016).

Para fins regulatórios, a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), uma organização internacional voltada para o crescimento econômico sustentável e o estabelecimento de normas baseadas em evidências, publicou em 2007 um documento que define os princípios para a validação de metodologias *in silico* (OECD, 2014). Esse documento orienta como as agências reguladoras de cada país podem avaliar o uso de técnicas computacionais, disponibilizando diretrizes flexíveis, ilustrando a aplicação dos processos de validação para diferentes abordagens *in silico*, sem impor regras rígidas (OECD, 2014).

Além disso, a regulamentação REACH (Registro, Avaliação, Autorização e Restrição de Produtos Químicos) foi criada pela Agência Europeia dos Produtos Químicos (ECHA) com o objetivo de proteger o meio ambiente e a saúde humana dos riscos associados aos produtos químicos (Gozalbes; Julián-Ortiz, 2018). O REACH também promove o uso de métodos alternativos para a avaliação dos perigos dessas substâncias, visando reduzir o número de testes realizados em animais, assim a produção e o uso de produtos químicos fabricados ou importados para a Europa são controlados (Gozalbes; Julián-Ortiz, 2018).

Os fabricantes e importadores de produtos químicos na União Europeia devem registrar suas substâncias junto à ECHA, fornecendo informações detalhadas sobre elas (ECHA, 2016). Esse processo de compartilhamento de dados visa evitar testes desnecessários e a duplicação de ensaios, incentivando as empresas que produzem ou importam o mesmo produto a trocarem informações sobre suas propriedades (ECHA, 2016). A ECHA publica um relatório a cada três anos, discutindo o uso de métodos alternativos e fornecendo orientação para novas empresas sobre como avaliar a segurança de seus produtos (ECHA, 2016).

Além disso, a organização oferece *workshops*, guias práticos para evitar testes em animais, e disponibiliza informações no IUCLID (*International Uniform Chemical Information Database*), um *software* que segue as diretrizes da OCDE e do REACH, armazenando dados sobre as propriedades intrínsecas das substâncias químicas, oferecendo às autoridades regulatórias e às empresas uma ferramenta para gerenciar o conhecimento sobre esses produtos. (ECHA, 2016; OECD, 2021).

Por fim, as abordagens de toxicologia *in silico*, se alinham com o princípio dos 3 R's, pois possuem o potencial de reduzir ou mesmo substituir completamente a necessidade de testes em animais, devido a métodos como o QSAR, capaz de relacionar a estrutura química da molécula com sua atividade biológica ou toxicidade, por exemplo (Moudgal *et al.*, 2023).

Assim, além de minimizar os testes em animais, a utilização dos 3 R's na avaliação da toxicidade *in silico* pode levar a formas mais eficazes, rápidas e acessíveis de avaliar a

segurança das substâncias (Moudgal *et al.*, 2023; Laschke; Gu; Menger, 2022; Kovarich; Cappelli, 2022).

Em 2015, durante uma Assembleia Geral da ONU, foram estabelecidos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), organizados em três pilares: social, econômico e ambiental, com a meta de garantir um futuro sustentável até 2030 (UNDP, 2024). Isso inclui a ênfase na química verde, que incentiva o planejamento de produtos e processos para reduzir ou eliminar a geração de substâncias nocivas (Mitarlis; Azizah; Yonata, 2024). Os princípios dos 3 R's se associam especialmente com os ODS 12 e 13, que discorrem sobre medidas para promover o consumo e produção consciente e para combater alterações climáticas, respectivamente (Mitarlis; Azizah; Yonata, 2024).

Já as ferramentas *in silico* se relacionam com alguns objetivos, entre eles o ODS 3, que procura melhorar a saúde de todos, em todas as idades, e proporcionar acesso a saúde de qualidade, já que os métodos mencionados podem auxiliar no desenvolvimento de vacinas e novos medicamentos, por exemplo (Nações Unidas No Brasil, 2024). Do mesmo modo, métodos *in silico* estão cada vez mais sendo utilizadas na química sustentável, justamente por seguir os princípios desta, como gerar menos resíduos, desenvolver rotas sintéticas seguras e prever a formação de substâncias tóxicas e derivados (Donato *et al.*, 2022).

3.7.1 Método/modelagem QSAR/SAR

A relação estrutura-atividade (SAR) é um método que correlaciona a estrutura molecular dos compostos com sua atividade biológica, por meio de interações com seu receptor (Arroio; Honório; Silva, 2010).

É baseado na premissa que uma pequena mudança estrutural pode levar a grandes variações na atividade biológica, por exemplo o isoproterenol possui ação hipotensiva por ser substituído pelo grupo *N*-isopropil, já a epinefrina é substituída por um grupo *N*-metil, e por isso possui ação hipertensiva (Rajpoot *et al.* 2022).

Dessa forma, é possível prever a toxicidade de um medicamento ou molécula que possuem dados experimentais *in vitro* e *in vivo* escassos, sendo fundamental na fase inicial do desenvolvimento de novos fármacos (Alves *et al.*, 2018).

A aplicabilidade dos modelos SAR é ampla, o que possibilita a utilização em áreas que vão da saúde até o meio ambiente, como forma de antever a toxicidade dos compostos ou

mecanismo de ação de um fármaco ou pesticida, e otimizar moléculas bioativas nas fases iniciais do desenvolvimento de novos fármacos (Peruquetti, 2019).

Depois de selecionadas, o QSAR pode ser aplicado para verificação da eficácia dos compostos (Peruquetti, 2019). Ainda, enquanto o SAR é qualitativo, permitindo uma análise das variações estruturais que afetam a resposta biológica, a relação quantitativa estrutura-atividade (QSAR) amplia o conceito do SAR por seu uma abordagem quantitativa (Gad, 2014).

O QSAR aplica descritores moleculares, que são sequências numéricas dada a uma estrutura química de acordo com suas propriedades físico-químicas (e.g hidrofobicidade, polaridade e densidade eletrônica), para expressar matematicamente uma propriedade final definida, ou “*endpoint*”, em função de seus parâmetros estruturais (Rajpoot *et al.* 2022; Alves *et al.*, 2018).

Os descritores moleculares representam a estrutura química de determinada molécula, e são obtidas de um experimento padronizado, de forma a ser entendida e processada por um programa de computador (Alves *et al.*, 2018).

Também, diversos descritores podem representar diferentes estruturas, ou seja, podem ser classificados de acordo com a dimensão: (i) unidimensional (1D), quando baseados em propriedades físico-químicas e forma molecular (e.g logP e massa molecular); (ii) bidimensional (2D), quando descrevem propriedades calculadas a partir de uma representação 2D (e.g número de átomos e ligações) e (iii) tridimensionais (3D), quando dependem da conformação da molécula (Alves *et al.*, 2018).

Outra classificação dada aos descritores diz respeito a sua natureza: (i) constitucionais, oferecem uma simples descrição da composição atômica da molécula; (ii) topológicos, diz sobre o arranjo de ligações do composto, indicando se a molécula é rígida ou não; (iii) geométricos, descrevem a forma e o tamanho do composto; (iv) eletrostáticos, descrevem informações sobre a distribuição da carga molecular, como o momento dipolo e (v) químicos-quânticos, discorre sobre a estrutura eletrônica da molécula, como as energias dos orbitais e a afinidade eletrônica (Freitas, 2017).

Programas como o DRAGON[®] e o CODESSA[®] estão disponíveis para serem empregados no cálculo dos descritores químicos (Alves *et al.*, 2018). Apesar de serem possíveis de calcular manualmente, devido a grande quantidade de descritores e conjunto de dados torna-se inviável o cálculo sem a assistência de um computador (Alves *et al.*, 2018).

Os sistemas especialistas que simulam o raciocínio humano, como DEREK[®] e LAZAR[®], oferecem ferramentas de previsão pré construídas que geram os descritores moleculares em menos tempo, ainda, vários *softwares* podem ser aplicados na previsão de

toxicidade para a triagem destes descritores, como o QSAR Toolbox e ToxTree (Rajpoot *et al.* 2022).

Para um modelo QSAR ser útil é preciso que ele faça a previsão de determinada propriedade e que seja reproduzível, por isso a validação do método é necessária para analisar a robustez e preditividade (Alves *et al.*, 2018).

A validação pode ser dividida em interna e externa (Duarte, 2016). Na validação interna, é realizada a retirada de um ou mais compostos do conjunto de dados, um processo conhecido como *leave-one-out* (quando um composto é retirado) ou *leave-many-out* (quando vários compostos são removidos), assim um novo modelo é gerado com os compostos restantes, que então deverá estimar a atividade biológica dos compostos removidos (Alves *et al.*, 2018).

Por outro lado, a validação externa ocorre quando uma parte dos compostos é separada do conjunto de dados original para formar o conjunto de teste (Alves *et al.*, 2018; Birck; Campos; Melo, 2016). O modelo QSAR é então construído utilizando o conjunto de dados restante, e os valores experimentais dos dois conjuntos são comparadas, avaliando assim sua capacidade preditiva (Alves *et al.*, 2018; Birck; Campos; Melo, 2016).

Conforme mencionado anteriormente, uma forma de assegurar a qualidade dos modelos gerados pelo QSAR é seguir os princípios estabelecidos pela OECD, como robustez e capacidade preditiva (Alves *et al.*, 2018). Nesse contexto, a preparação adequada do conjunto de dados é fundamental, pois evita que erros sejam propagados para estudos subsequentes, incluindo por exemplo, a remoção de duplicatas e a exclusão de dados provenientes de fontes não confiáveis (Alves *et al.*, 2018).

A escassez de dados é um fator decisivo que impede o avanço da substituição completa dos testes *in vivo* pelos *in silico*, já que alguns alvos genéticos ou proteicos não podem ser previstos com precisão devido à indisponibilidade de dados necessários, seja porque não estão em domínio público ou porque simplesmente não existem (Wang; Goodman; Allen, 2020).

Embora os métodos *in silico* ainda não possam ser totalmente substituídos, eles podem ser usados de forma complementar e concomitante aos métodos *in vitro* em determinadas fases do desenvolvimento de fármacos, como na triagem de compostos (Wang; Goodman; Allen, 2020). Isso contribui para a redução dos altos custos e das questões éticas e regulatórias, além de mitigar os desafios enfrentados nos métodos *in vivo*, como a dificuldade em determinar a toxicologia devido aos vários metabólitos gerados e aos efeitos idiossincráticos que afetam uma pequena parcela da população (Wang; Goodman; Allen, 2020).

3.7.2 Modelagem de alerta estruturais

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), uma reação adversa a medicamentos (RAM) é qualquer resposta nociva, indesejada e não intencional que ocorre nas doses normalmente utilizadas para profilaxia, diagnóstico ou tratamento (OMS, 2002). As RAMs podem ser classificadas em dois tipos: previsíveis, ou tipo A, e imprevisíveis, ou tipo B (Aronson; Ferner, 2003).

As reações adversas previsíveis são dose-dependentes e podem ocorrer em qualquer indivíduo, pois estão relacionadas à ação farmacológica do medicamento (Pereira, 2002). Elas incluem superdosagem relativa, citotoxicidade e interações medicamentosas e apesar de serem comuns, sua letalidade é baixa e são tratadas com ajuste de dose ou substituição do fármaco (Pereira, 2002).

Em contraste, as reações imprevisíveis não dependem das propriedades farmacológicas, mas da resposta individual do paciente, como em casos de hipersensibilidade, idiosincrasia e intolerância (Kalgutkar, 2019). Essas reações são difíceis de prever, pois geralmente não aparecem em estudos toxicológicos com animais, surgindo apenas na fase 3 dos ensaios clínicos ou no pós-registro (Kalgutkar, 2019).

O mecanismo das reações adversas idiosincráticas ainda é incerto, mas acredita-se que resultem da bioativação de moléculas xenobióticas em metabólitos eletrofílicos reativos durante o metabolismo (Limban *et al.*, 2018). Esses metabólitos podem modificar covalentemente proteínas no tecido-alvo, alterando suas funções e desencadeando uma resposta imune, o que pode levar a efeitos tóxicos (Benigni; Bossa, 2011). Além disso, por serem eletrofílicos, esses metabólitos podem reagir com o DNA, resultando em mutagenicidade, carcinogênese e teratogênese (Benigni; Bossa, 2011).

Os alertas estruturais ou toxicóforos, são grupos funcionais altamente reativos ou fragmentos que podem ser bioativados por enzimas humanas, logo podem ser utilizados como forma de evitar medicamentos em desenvolvimento que tenham esses metabólitos reativos e consequentemente seus efeitos tóxicos (Limban *et al.*, 2018).

Os alertas estruturais podem ser combinados com métodos como QSAR e “*read-across*” para melhorar a precisão das previsões de toxicidade, proporcionando uma abordagem mais robusta e confiável no design de compostos (Limban *et al.*, 2018).

3.7.3 Método comparativo

O método comparativo, ou “*read-across*”, é utilizado para preencher lacunas de dados de uma molécula dentro de uma categoria, extrapolando informações de outra substância com estrutura molecular e propriedades químicas semelhantes (Liu *et al.*, 2018).

A premissa é que substâncias com semelhanças químicas também apresentam propriedades toxicocinéticas e toxicodinâmicas semelhantes (Schultz *et al.*, 2015). Assim, os dados toxicológicos obtidos experimentalmente para a substância de origem podem ser usados para inferir a toxicidade de *endpoints* (como irritação da pele ou carcinogenicidade) da substância-alvo, considerada similar (Schultz *et al.*, 2015).

A técnica pode ser aplicada por meio de duas abordagens: a analógica, que utiliza o método comparativo em um pequeno número de substâncias estruturalmente semelhantes; ou a abordagem por categorias, na qual a interpolação de dados é realizada entre várias substâncias com base em similaridade estrutural (ECHA, 2016). Essa segunda abordagem não substitui a analógica, mas sim complementa, estabelecendo um padrão consistente de dados, onde cada análogo reforça a confiabilidade do outro, proporcionando maior peso de evidência à informação (ECHA, 2016).

Embora o método siga o regulamento REACH implementado pela ECHA e não seja uma técnica nova, a própria agência faz ressalvas quanto ao seu uso (ECHA, 2016). Isso porque a aplicação da metodologia deve atender a alguns requisitos, como: (i) a substância de origem e a substância-alvo devem compartilhar um grupo funcional comum; (ii) apresentar precursores ou produtos de degradação semelhantes; (iii) ter um padrão consistente de variação de potência; e (iv) pertencer à mesma classe química ou ter constituintes em comum (ECHA, 2016).

Parâmetros mais simples, como irritação ocular, podem ser resolvidos com uma combinação de modelos QSAR e técnicas *in vitro*, enquanto estudos mais complexos, como os de 90 dias que exigem grande número de animais, podem justificar o uso do “*read-across*” (Patlewicz *et al.*, 2014).

Por isso, a ECHA desenvolveu o RAAF (*Read-across Assessment Framework*), uma abordagem sistemática que fornece orientação para uma avaliação consistente dos dados, resultando em um “*read-across*” adequado (ECHA, 2017). Apesar de ser um documento ainda em desenvolvimento e proposto para uso interno pela ECHA, é possível utilizá-lo para auxiliar no desenvolvimento de justificativas para o emprego do método comparativo (Patlewicz *et al.*, 2013).

4 MÉTODOS

Foi realizada a triagem *in silico* de possíveis efeitos tóxicos produzidos pela exposição às substâncias derivadas de *C. sativa*. Os compostos testados foram: CBD, THC, CBC, CBG e CBGA.

Para a avaliação de toxicidade, foi utilizada a metodologia *in silico* QSAR, que por meio de modelos computacionais e matemáticos permite inferir a probabilidade de ocorrência de efeitos tóxicos.

O *software* OECD QSAR Toolbox versão 4.5 foi utilizado para realizar as predições de toxicidade aguda, crônica, mutagenicidade e carcinogenicidade que essas moléculas possam apresentar. Da mesma forma, foi possível entender os mecanismos envolvidos nos possíveis danos causados pelas substâncias testadas.

Foi utilizada a fórmula SMILES (*simplified molecular input line entry specification*) para a entrada (*input*) das substâncias no *software*, e a confirmação ocorreu pela conferência do nome químico e número CAS.

Para cada uma das moléculas de interesse, foram utilizadas as seguintes fórmulas SMILES e números CAS:

a) CBD:

- fórmula SMILES: CCCCC1=CC(=C(C(=C1)O)C2C=C(CCC2C(=C)C)C)O;
- número CAS: 13956-29-1;

b) THC:

- fórmula SMILES: CCCCC1=CC(=C2C3C=C(CCC3C(OC2=C1)(C)C)C)O;
- número CAS: 1972-08-3;

c) CBC:

- fórmula SMILES: CCCCC1=CC(=C2C=CC(OC2=C1)(C)CCC=C(C)C)O;
- número CAS: 20675-51-8;

d) CBG:

- fórmula SMILES: CCCCC1=CC(=C(C(=C1)O)CC=C(C)CCC=C(C)C)O;
- número CAS: 25654-31-3;

e) CBGA:

- | | | |
|--|---------|---------|
| - | fórmula | SMILES: |
| <chem>CCCCC1=CC(=C(C(=C1C(=O)O)O)CC=C(C)CCC=C(C)C)O</chem> | | |

- número CAS: 25555-57-1.

Os *endpoints* selecionados para o módulo criação de perfil (*profiling*) foram: toxicidade oral aguda, dose repetida (Histopatológico de Órgãos para Sinais de Segurança - HESS), alertas de carcinogenicidade (genotóxica e não genotóxica) por ISS, alertas de mutagenicidade *in vitro* (teste de Ames) pelo Instituto Italiano Superior de Saúde (ISS), alertas de mutagenicidade *in vivo* (teste do micronúcleo) por ISS, alertas de ligação de proteínas para aberração cromossômica pelo Sistema de Informação de Alertas Químicos (OASIS) e ligação ao receptor do ácido retinóico.

Para o módulo de preenchimento de lacunas de dados (*data gap filling*), os *endpoints* selecionados foram: toxicidade aguda, toxicidade por dose repetida, carcinogenicidade e toxicidade genética. O programa gerou um perfil para a molécula com base em sua estrutura e preencheu as lacunas de dados da substância-alvo, utilizando dados de análogos por meio de análise de tendências, *read-across* ou modelos QSAR existentes, para moléculas sem dados experimentais completos.

O programa então produziu uma planilha (*report*) com os alertas identificados para as substâncias.

5 RESULTADOS

A seguir estão descritos os resultados obtidos pela avaliação de toxicidade *in silico* das moléculas CBD, THC, CBC, CBG e CBGA pela metodologia QSAR, que permite inferir propriedades das moléculas, como a presença ou ausência de efeitos tóxicos.

Os resultados descrevem informações relacionadas a avaliação da toxicidade aguda e crônica, além de alertas de mutagenicidade tanto para ensaios *in vitro* (teste de Ames) quanto *in vivo* (teste do micronúcleo), realizados pelo ISS (Instituto Italiano Superior de Saúde). Também foram analisados alertas de ligação a proteínas relacionados a aberrações cromossômicas pelo OASIS (Sistema de Informação de Alertas Químicos), alertas de carcinogenicidade (genotóxica e não genotóxica) pelo ISS, e a ligação ao receptor de ácido retinóico.

No módulo de “*data gap filling*” o programa preencheu lacunas de dados para a substância alvo utilizando empregando dados de substâncias análogas ou modelos preditivos

para fornecer estimativas da toxicidade. Os *endpoints* utilizados foram: toxicidade aguda, toxicidade por dose repetida, carcinogenicidade e toxicidade genética

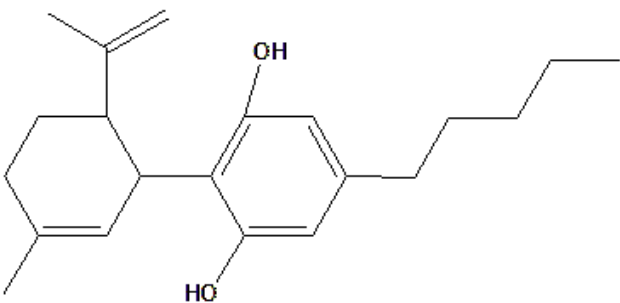
5.1 CANABIDIOL

Na criação de perfil (*profilers*) do canabidiol, que identifica a associação da substância-alvo com categorias previamente definidas, como os *endpoints*, a molécula apresentou toxicidade aguda, devido ao fato de ser um derivado de resorcinol. No entanto, para toxicidade crônica, nenhum alerta específico foi identificado.

A predição da toxicidade aguda foi determinada através de testes de DL_{50} em duas vias de administração distintas, previamente identificadas pelo *software*.

Para a via intravenosa, o valor de DL_{50} observado foi de 40,7 mg/kg, enquanto na administração subcutânea, o valor foi de 530 mg/kg, sugerindo uma toxicidade significativamente menor pela via subcutânea em comparação à intravenosa (quadro 1).

QUADRO 1 - *Data gap filling* para toxicidade aguda do canabidiol.

<i>Data gap filling</i>		
 Canabidiol		
<i>Endpoint</i>	Resultado	Espécie, duração, tipo de teste, tipo de método, ensaio, cepa, diretriz de teste, ano, referência, banco de dados
DL_{50} Via intravenosa	40,7 mg/kg/dia	Organismos de teste (espécies): Camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Toxicidade aguda em camundongos, intravenosa - Modelo dinamarquês DB QSAR ACDLabs
DL_{50} Via subcutânea	530 mg/kg/dia	Organismos de teste (espécies): Camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Toxicidade aguda em camundongo, subcutâneo - Modelo dinamarquês DB QSAR ACDLabs

Fonte: do autor. DL₅₀– dose letal média; mg/kg/dia - miligramas por quilograma por dia; SAR - modelo de relação estrutura/atividade; QSAR – modelo de relação quantitativa estrutura/atividade.

Na predição dos efeitos de toxicidade por dose repetida, os resultados indicaram a presença de toxicidade crônica, sugerindo que a exposição prolongada a doses moderadas pode causar efeitos adversos significativos (quadro 2). No entanto, o *software* não especificou a dosagem exata nem a via de administração.

QUADRO 2 - *Data gap filling* para toxicidade crônica do canabidiol.

<i>Data gap filling</i>		
<i>Endpoint</i>	<i>Resultado</i>	<i>Espécie, duração, tipo de teste, tipo de método, ensaio, cepa, diretriz de teste, ano, referência, banco de dados</i>
Toxicidade de dose repetida	Positivo	Organismos de teste (espécies): <i>Homo sapiens</i> Metodologia: QSAR Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Battery</i> , <i>Leadscope</i> e <i>SciQSAR</i>

Fonte: do autor. QSAR – modelo de relação quantitativa estrutura/atividade; DB QSAR - banco de dados para relação quantitativa estrutura-atividade; SAR - modelo de relação estrutura/atividade.

Quando testada para a predição *in silico* de mutagenicidade *in vitro* usando o teste de Ames, e *in vivo* por meio do teste do micronúcleo, de acordo com o ISS, o CBD não apresentou nenhum alerta positivo, indicando ausência de atividade mutagênica nos organismos testados.

Os testes para carcinogenicidade genotóxica e não genotóxica, de acordo com o ISS, não identificaram nenhum alerta relevante. Isso sugere que a molécula não possui potencial carcinogênico, seja por danos diretos ao DNA (genotóxicos) ou por mecanismos indiretos (não genotóxicos), classificando-a como uma substância de baixo risco para o desenvolvimento de câncer em humanos.

Nos testes de interação com o receptor de ácido retinóico, não foi detectado nenhum alerta, indicando que a molécula não tem potencial para ativar esse receptor, logo não interferiria nos processos biológicos regulados pelo ácido retinóico, como diferenciação celular e desenvolvimento embrionário.

No entanto, a molécula apresentou um alerta, conforme identificado pelo OASIS, para fenóis hidroxilados relacionados à ligação com proteínas e associados à mutagenicidade. Esse efeito está principalmente ligado à capacidade de gerar EROs, que podem induzir danos ao DNA.

A avaliação toxicológica do CBD também foi realizada por meio de modelos de *data gap filling*, focados em prever seu potencial carcinogênico utilizando modelos SAR/QSAR fornecidos pelo banco de dados dinamarquês (quadro 3).

Em todos os bancos de dados avaliados, o resultado foi negativo, indicando que a molécula não apresenta características carcinogênicas em roedores, como ratos e camundongos, independentemente do sexo dos animais testados. Além disso, o potencial carcinogênico da molécula foi especificamente avaliado para câncer hepático em ratos e camundongos, com resultado negativo.

QUADRO 3 - *Data gap filling* para carcinogenicidade do canabidiol.

<i>Data gap filling</i>		
<i>Endpoint</i>	Resultado	Espécie, duração, tipo de teste, tipo de método, ensaio, cepa, diretriz de teste, ano, referência, banco de dados
Câncer em ratos	Negativo	Organismos de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i> e <i>Leadscope</i>
Câncer em ratos fêmeas	Negativo	Organismos de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i> e <i>Leadscope</i>
Câncer em ratos machos	Negativo	Organismos de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i> e <i>Leadscope</i>
Câncer em camundongos	Negativo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Câncer em roedores	Negativo	Organismos de teste (espécies): Roedor Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i> e <i>Leadscope</i>
Câncer de fígado em rato/camundongo	Negativo	Organismos de teste (espécies): Rato/Camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i>

Fonte: do autor. FDA RCA - análise de conformidade regulatória do *Food and Drug Administration*; QSAR – modelo de relação quantitativa estrutura/atividade; DB QSAR - banco de dados para relação quantitativa estrutura-atividade; SAR - modelo de relação estrutura/atividade.

Além disso, com base na abordagem de *data gap filling*, a molécula foi testada quanto à toxicidade genética utilizando diferentes modelos SAR/QSAR para prever aberrações cromossômicas e mutações genéticas (quadro 4). As predições foram realizadas relacionando-se com metodologias *in vivo* e *in vitro* de moléculas que possuem similaridade estrutural com o CBD.

A molécula testada apresentou resultado positivo em ensaio de micronúcleo em organismos da classe Mammalia (*in vivo*), realizado para avaliar seu potencial de causar mutagenicidade.

Os ensaios foram realizados ainda, tanto para prever a ocorrência de mutações quanto para identificar alertas estruturais relacionados à reatividade do DNA associada ao câncer.

Os resultados baseados em ensaios *in vitro* mostraram que a molécula não apresenta potencial mutagênico em bactérias, conforme predito pelos modelos SAR/QSAR.

A ausência de mutação genética detectada em todos os modelos analisados, incluindo o teste de Ames e os alertas estruturais de Ashby, sugerem que a molécula não induz mutações pontuais em DNA bacteriano.

QUADRO 4 - *Data gap filling* para toxicidade genética do canabidiol.

<i>Data gap filling</i>		
<i>Endpoint</i>	Resultado	Espécie, duração, tipo de teste, tipo de método, ensaio, cepa, diretriz de teste, ano, referência, banco de dados
Mutagenicidade	Positivo	Organismos de teste (espécies): Mammalia Tipo de teste: Ensaio de micronúcleo Tipo de método: <i>in vivo</i> Ano: 1980 Fonte de referência: Farmacologia 21:277-287 Base de dados: Micronúcleo OASIS
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): <i>Salmonella typhimurium</i> Tipo de teste: Ensaio de mutação reversa bacteriana (por exemplo, teste de Ames) Tipo de método: <i>in vitro</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Teste de Ames em <i>S. typhimurium</i> (<i>in vitro</i>) - Modelo dinamarquês DB QSAR Battery, CASE Ultra, Leadscope e SciQSAR
Mutagenicidade	Negativo	Tipo de teste: Alertas estruturais para reatividade de DNA relacionada ao câncer Metodologia: SAR/QSAR externo

		SAR/QSAR: Alertas Estruturais Ashby - Modelo dinamarquês DB QSAR
--	--	--

Fonte: do autor. QSAR – modelo de relação quantitativa estrutura/atividade; DB QSAR - banco de dados para relação quantitativa estrutura-atividade; SAR - modelo de relação estrutura/atividade; OASIS: Sistema de Informação de Alertas Químicos.

5.2 Δ^9 -TETRAHIDROCANABINOL

Na avaliação de toxicidade *in silico* do THC para toxicidade aguda e crônica os resultados indicaram que não foram identificados alertas estruturais, o que sugere que o THC não apresenta potencial tóxico significativo sob as condições avaliadas.

O THC foi submetido ao processo de *data gap filling*, que avaliou sua toxicidade aguda. Os resultados revelaram que o valor de DL_{50} da substância é de 666 mg/kg em ratos, administrado por via oral, com um tempo de exposição de 24 horas. O teste foi realizado utilizando um método *in vivo* e os dados são provenientes do ano de 2012.

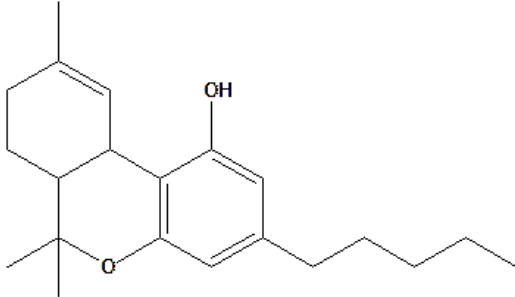
Em relação a toxicidade crônica os resultados indicaram que o NOEL (maior dose que não são observados efeitos tóxicos) foi calculado em 50 mg/kg de peso corporal por dia em ratos. O estudo teve uma duração de 21 dias e foi realizado através de um teste de teratologia em 1989, conforme a referência de Hutchings *et al.*

A molécula foi submetida a uma série de testes preditivos para diferentes *endpoints*, incluindo o teste de Ames, teste do micronúcleo, alertas de ligação a proteínas para aberrações cromossômicas (modelo OASIS), carcinogenicidade genotóxica e não genotóxica (ISS), além de ligação ao receptor de ácido retinóico. Os testes realizados não apresentaram alertas relevantes, indicando que a molécula não apresenta risco de mutagenicidade, potencial carcinogênico, nem interage com o receptor de ácido retinóico.

De acordo com os inúmeros modelos SAR/QSAR utilizados voltados para a previsão de carcinogenicidade em diferentes espécies de roedores e órgãos específicos, a molécula não apresenta risco significativo de induzir carcinogenicidade em roedores, especificamente ratos fêmeas e machos. Entretanto, alertas positivos foram identificados em modelos utilizando camundongos, o que sugere que o potencial carcinogênico da molécula pode ser mais relevante em camundongos, independentemente do sexo, do que em outras espécies avaliadas.

A seguir o quadro 5 mostra os modelos utilizados.

QUADRO 5 - Data gap filling para carcinogenicidade do Δ^9 -tetrahydrocannabinol.

Data gap filling		
 Δ^9-tetrahydrocannabinol		
Endpoint	Resultado	Espécie, duração, tipo de teste, tipo de método, ensaio, cepa, diretriz de teste, ano, referência, banco de dados
Câncer em ratos	Negativo	Organismos de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em ratos - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i> e <i>Leadscope</i>
Câncer em ratos fêmeas	Negativo	Organismos de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em ratos fêmeas - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i> e <i>Leadscope</i>
Câncer em ratos machos	Negativo	Organismos de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em ratos machos- Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i> e <i>Leadscope</i>
Câncer em camundongos fêmeas	Positivo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em camundongos fêmeas - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Câncer em camundongos machos	Positivo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em camundongos machos- Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Câncer em roedores	Negativo	Organismos de teste (espécies): Roedor Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em roedores - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i> e <i>Leadscope</i>
Câncer de fígado em ratos e camundongos	Negativo	Organismos de teste (espécies): Câncer de fígado de rato/camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Câncer de fígado específico em ratos ou camundongos - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i>

Fonte: do autor. FDA RCA - análise de conformidade regulatória do *Food and Drug Administration*; QSAR – modelo de relação quantitativa estrutura/atividade; DB QSAR - banco de dados para relação quantitativa estrutura-atividade; SAR - modelo de relação estrutura/atividade.

De modo geral, os resultados para as predições de toxicidade genética, como mutagenicidade em diferentes cepas de *Salmonella typhimurium*, indicaram ausência de potencial mutagênico, conforme detalhado no quadro seguir:

QUADRO 6 - *Data gap filling* para toxicidade genética do Δ^9 -tetrahydrocannabinol.

<i>Data gap filling</i>		
<i>Endpoint</i>	<i>Resultado</i>	<i>Espécie, duração, tipo de teste, tipo de método, ensaio, cepa, diretriz de teste, ano, referência, banco de dados</i>
Mutagenicidade	Negativo	Tipo de teste: Ensaio de micronúcleo Tipo de método: <i>in vivo</i> Ano: 1978 Fonte de referência: Experientia, 34 (3), 324-5 Autor: Van Went Gf Título: Teste de mutagenicidade de 3 alucinógenos: LSD, psilocibina e Δ^9 -THC, usando o teste do micronúcleo Base de dados: Micronucleus OASIS
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): <i>Salmonella typhimurium</i> Tipo de teste: Ensaio de mutação reversa bacteriana (por exemplo, teste de Ames) Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: TA 97 Autor: P&G Base de dados: Genotoxicidade OASIS
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): <i>Salmonella typhimurium</i> Tipo de teste: Ensaio de mutação reversa bacteriana (por exemplo, teste de Ames) Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: TA 98 Autor: P&G Base de dados: Genotoxicidade OASIS
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): <i>Salmonella typhimurium</i> Tipo de teste: Ensaio de mutação reversa bacteriana (por exemplo, teste de Ames) Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: TA 100 Autor: P&G Base de dados: Genotoxicidade OASIS

Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): <i>Salmonella typhimurium</i> Tipo de teste: Ensaio de mutação reversa bacteriana (por exemplo, teste de Ames) Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: TA 1535 Autor: P&G Base de dados: Genotoxicidade OASIS
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): <i>Salmonella typhimurium</i> Tipo de teste: Ensaio de mutação reversa bacteriana (por exemplo, teste de Ames) Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: TA 1537 Autor: P&G Base de dados: Genotoxicidade OASIS
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): <i>Salmonella typhimurium</i> Tipo de teste: Ensaio de mutação reversa bacteriana (por exemplo, teste de Ames) Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: TA 1538 Autor: P&G Base de dados: Genotoxicidade OASIS
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): <i>Salmonella typhimurium</i> Tipo de teste: Ensaio de mutação reversa bacteriana (por exemplo, teste de Ames) Tipo de método: <i>in vitro</i> Fonte de referência: Mutation Research 584 (2005) 1-256 Autor: Kirkland <i>et al.</i> Base de dados: Genotoxicidade OASIS

Fonte: do autor. LSD – dietilamida do ácido lisérgico; OASIS - Sistema de Informação de Alertas Químicos.

A avaliação *in silico* do potencial de causar mutações gênicas identificou a avaliação por meio do ensaio de micronúcleo *in vivo*, conduzido em 1978. O estudo, publicado por Van Went Gf na revista *Experientia*, testou a molécula juntamente com outros alucinógenos (LSD, psilocibina e Δ^9 -THC) e apresentou resultado negativo, indicando que a molécula não causa mutações gênicas.

O *software* QSAR Toolbox identificou que a molécula foi submetida a diversos testes de mutação genética utilizando o ensaio de mutação reversa bacteriana (teste de Ames) com diferentes cepas de *Salmonella typhimurium*. Os testes originaram resultado negativo, indicando que a molécula não possui potencial mutagênico. Esses ensaios foram realizados

utilizando metodologia *in vitro*, com diferentes cepas bacterianas, e incluíram estudos conduzidos por P&G e citados em publicações como *Mutation Research*.

5.3 CANABICROMENO

De acordo com o “*profiling*” do CBC, não houve alertas estruturais ligados à toxicidade aguda ou crônica, confirmando que nas circunstâncias analisadas, o CBC não tem um potencial de toxicidade significativo.

Já na técnica de “*data gap filling*” onde a toxicidade aguda foi avaliada utilizando dados de moléculas análogas ao CBC, os resultados indicaram a previsão de valor de DL_{50} de 160 mg/kg em camundongos com administração intraperitoneal.

O CBC foi submetido à análise *in silico* de toxicidade de dose repetida através do processo de *data gap filling*, com previsão baseada em dois bancos de dados: o dinamarquês *Leadscope* e o *SciQSAR*.

No *Leadscope*, os resultados indicaram um alerta positivo para a dose diária máxima recomendada, sugerindo que a molécula poderia apresentar toxicidade em humanos para doses superiores a 2,69 mg/kg/dia. O modelo prevê que o organismo de teste (espécie: *Homo sapiens*) apresenta potencial risco quando exposto a doses diárias que excedem esse valor, o que deve ser considerado em uma avaliação mais detalhada de segurança para uso humano.

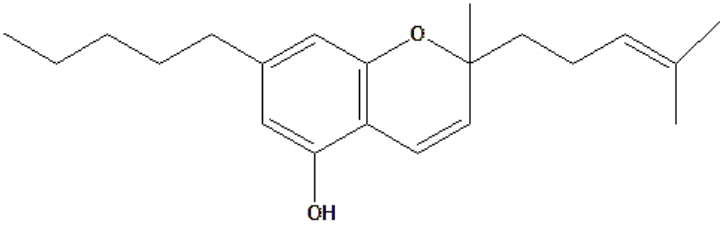
Por outro lado, no modelo *SciQSAR*, a previsão foi negativa, não sendo observados indicações de toxicidade. A dose máxima diária recomendada foi a mesma que a encontrada no método *Leadscope*, isto é, a dose de 2,69 mg/kg/dia. Este resultado sugere que, segundo este modelo, não há evidências de toxicidade relevante para doses diárias dentro do limite estabelecido.

Essas divergências entre os modelos indicam a necessidade de análises mais detalhadas, uma vez que resultados contraditórios podem ocorrer dependendo das abordagens QSAR utilizadas.

A carcinogenicidade da molécula foi avaliada utilizando múltiplos modelos QSAR, abrangendo diferentes organismos de teste. Os resultados foram negativos para ratos (fêmeas e machos), camundongos (fêmeas) e roedores de maneira geral. No entanto, foi identificado um resultado positivo para carcinogenicidade no modelo aplicado a camundongos machos. Além

disso, o potencial carcinogênico para câncer hepático em ratos e camundongos também foi avaliado, apresentando resultado negativo (quadro 7).

QUADRO 7 - *Data gap filling* para carcinogenicidade do canabicromeno.

Data gap filling		
 Canabicromeno		
Endpoint	Resultado	Espécie, duração, tipo de teste, tipo de método, ensaio, cepa, diretriz de teste, ano, referência, banco de dados
Câncer em ratos	Negativo	Organismo de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em ratos - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Câncer em ratos fêmeas	Negativo	Organismo de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em ratos fêmeas - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Câncer em ratos machos	Negativo	Organismo de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em ratos machos - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Câncer em camundongos fêmeas	Negativo	Organismo de teste (espécies): Camundongo Metodologia: SAR/QSAR externo SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em camundongos fêmeas - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Câncer em camundongo macho	Positivo	Organismo de teste (espécies): Camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em camundongo macho - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Câncer em roedor	Negativo	Organismo de teste (espécies): Roedor Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em roedor - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Câncer de fígado em rato/camundongo	Negativo	Organismo de teste (espécies): Câncer específico de fígado em rato/camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Modelo dinamarquês DB QSAR <i>SciQSAR, CASE Ultra e Battery</i>

Fonte: do autor. DB QSAR - banco de dados para relação quantitativa estrutura-atividade; FDA RCA - análise de conformidade regulatória do *Food and Drug Administration*; QSAR – modelo de relação quantitativa estrutura/atividade; SAR - modelo de relação estrutura/atividade.

Os resultados dos testes de toxicidade genética no módulo de preenchimento de lacuna de dados (*data gap filling*), utilizando moléculas análogas ao CBC, indicaram uma variabilidade entre diferentes “*endpoints*” e modelos experimentais, como mostrado no quadro 8.

QUADRO 8 - *Data gap filling* para toxicidade genética do canabicromeno.

<i>Data gap filling</i>		
<i>Endpoint</i>	Resultado	Espécie, duração, tipo de teste, tipo de método, ensaio, cepa, diretriz de teste, ano, referência, banco de dados
Transformação celular	Positivo	Organismos de teste (espécies): células de embrião de hamster sírio (SHE) Tipo de teste: Ensaio de transformação em células de mamíferos <i>in vitro</i> Tipo de método: <i>in vitro</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Embrião de Hamster Sírio (SHE) Transformação celular - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Transformação celular	Negativo	Organismos de teste (espécies): células de embrião de hamster sírio (SHE) Tipo de teste: Ensaio de transformação em células de mamíferos <i>in vitro</i> Tipo de método: <i>in vitro</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Embrião de Hamster Sírio (SHE) Transformação celular - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>SciQSAR</i>
Mutagenicidade	Positivo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Tipo de teste: Teste de aberração cromossômica em mamíferos <i>in vivo</i> Tipo de método: <i>in vivo</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Teste de micronúcleo em eritrócitos de camundongo - Modelo dinamarquês DB QSAR CASE <i>Ultra, Battery e Leadscope</i>

Mutagenicidade	Positivo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Tipo de teste: Ensaio de mutação genética em células de mamíferos Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: Células de linfoma de camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Mutações no locus da timidina cinase em células de linfoma de camundongo - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Mutagenicidade	Positivo	Organismos de teste (espécies): Hamster chinês Tipo de teste: Teste de aberração cromossômica em mamíferos <i>in vitro</i> Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: Células de Pulmão de Hamster Chinês (CHL) Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Aberração cromossômica em células de pulmão de hamster chinês (CHL) - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i>
Mutagenicidade	Positivo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Tipo de teste: Ensaio de troca de cromátides irmãs em células de mamíferos Tipo de método: <i>in vivo</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Troca de cromátides irmãs em células da medula óssea de camundongos - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): Hamster chinês Tipo de teste: Teste de aberração cromossômica em mamíferos <i>in vitro</i> Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: Células de Pulmão de Hamster Chinês (CHL) Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Aberrações cromossômicas em células de pulmão de hamster chinês (CHL) - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>SciQSAR</i> e <i>Leadscope</i>
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): Roedor Tipo de teste: Teste do dominante letal Tipo de método: <i>in vivo</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Mutações letais dominantes em roedores - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Battery</i> , <i>SciQSAR</i> e <i>Leadscope</i>
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Tipo de teste: Ensaio de eletroforese em gel de célula única (cometa) Tipo de método: <i>in vivo</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Ensaio de cometa em camundongo - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Battery</i> , <i>Leadscope</i> e <i>SciQSAR</i>

Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): <i>Salmonella typhimurium</i> Tipo de teste: Ensaio de mutação reversa bacteriana (por exemplo, teste de Ames) Tipo de método: <i>in vitro</i> Metodologia: SAR/QSAR externo SAR/QSAR: Teste de Ames em <i>S. typhimurium</i> (<i>in vitro</i>) - Modelo dinamarquês DB QSAR Battery, CASE Ultra, Leadscope e SciQSAR
Mutagenicidade	Negativo	Tipo de teste: Alertas estruturais para reatividade de DNA relacionada ao câncer Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Alertas estruturais Ashby - Modelo dinamarquês DB QSAR Battery, SciQSAR e CASE Ultra

Fonte: do autor. DB QSAR - banco de dados para relação quantitativa estrutura-atividade; QSAR – modelo de relação quantitativa estrutura/atividade; SAR - modelo de relação estrutura/atividade.

Quando avaliado por meio de um Ensaio de transformação em células de mamíferos *in vitro*, utilizando células de embrião de hamster sírio, o resultado foi negativo para mutação gênica no banco de dados dinamarquês SciQSAR. No entanto, ao utilizar o banco de dados dinamarquês Leadscope, o resultado foi positivo.

O teste de mutagenicidade em camundongos, realizado *in vivo* por meio do ensaio do micronúcleo em eritrócitos, o *software* apresentou predições positivas com base em diversos bancos de dados, incluindo o QSAR Leadscope, CASE Ultra e QSAR Battery. Já a avaliação *in vitro* em células pulmonares de hamster chinês (CHL) mostrou resultados variados: enquanto o banco de dados CASE Ultra indicou resultado positivo, outros, como o Leadscope e o SciQSAR, apresentaram resultados negativos. Além disso, nos testes com roedores utilizando o teste letal dominante *in vivo*, os resultados também foram negativos para mutagenicidade.

A reunião de dados sobre ensaio de troca de cromátides irmãs em células de mamíferos realizado em camundongos encontrou resultado positivo, evidenciando potencial genotóxico, no entanto, os resultados de diversos ensaios de eletroforese em gel de célula única (cometa) foram consistentemente negativos, indicando que o CBC não induziu danos ao DNA detectáveis por essa metodologia.

Os ensaios de mutação genética realizada em células de linfoma de camundongos indicou uma presença positiva para mutações genéticas no locus da timidina cinase, sugerindo um potencial mutagênico para o CBC. No teste de Ames o resultado foi negativo para todos os bancos de dados analisados, indicando que o CBC não induz mutações em *Salmonella typhimurium*.

Por fim, o resultado para alertas estruturais para reatividade de DNA relacionada ao câncer foi negativo, indicando que a molécula não apresenta risco significativo de reatividade com o DNA que possa levar à carcinogenicidade.

5.4 CANABIGEROL

Na criação de perfil do CBG, a molécula apresentou um alerta estrutural relacionado a derivados de resorcinol, que se espera ter toxicidade oral aguda, devido à hidroxilação do anel aromático e às reações subsequentes de metabólitos altamente reativos, os quais podem causar lesões nos tecidos.

Para a toxicidade crônica, foram identificados fenóis, levando à classificação da substância como classe C. Essa classificação é baseada no fato de que o mecanismo toxicológico da substância não é bem compreendido, e os dados obtidos pela avaliação *in silico* foram definidos utilizando informações de testes de toxicidade por dose repetida.

No módulo “*data gap filling*”, as predições da DL_{50} foram utilizadas para avaliar a toxicidade aguda em camundongos por duas vias de administração distintas. Para a via intraperitoneal, o valor observado da DL_{50} foi de 150 mg/kg/dia, enquanto na administração intravenosa, o valor foi de 42,1 mg/kg/dia. Esses resultados indicam que a toxicidade pela via intraperitoneal é significativamente menor em comparação à intravenosa.

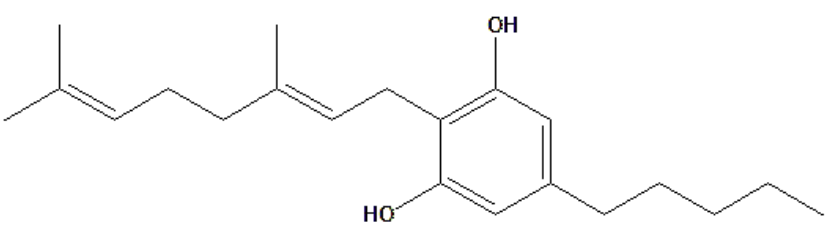
A avaliação da toxicidade de dose repetida foi realizada com base na dose diária máxima recomendada, utilizando a metodologia QSAR.

Os resultados apontam uma discrepância nas avaliações de toxicidade de dose repetida, com o modelo *Leadscope* indicando um resultado positivo no organismo testado (*Homo sapiens*), sugerindo que a substância pode apresentar potencial de toxicidade em doses diárias superiores a 2,69 mg/kg/dia. Em contraste, o modelo *SciQSAR* apresentou um resultado negativo nas mesmas condições, indicando a ausência de risco nesse limite de dose. Essa variação nos resultados ressalta a importância de utilizar múltiplos modelos na avaliação da segurança toxicológica da substância.

O CBG foi avaliado por método *in silico* para o potencial de apresentar resultados positivos em ensaios do teste de Ames e do teste do micronúcleo, para detectar potencial mutagênico, além de análises de carcinogenicidade genotóxica e não genotóxica, e ligação ao receptor de ácido retinóico. Foram identificados alertas estruturais para alquilbenzenos no teste de Ames, bem como para carcinogenicidade genotóxica.

Os modelos SAR/QSAR do banco de dados dinamarquês foram usados para prever o potencial carcinogênico do CBG durante a avaliação toxicológica, que foi conduzida usando modelos de preenchimento de lacunas de dados (quadro 9).

QUADRO 9 - *Data gap filling* para carcinogenicidade do canabigerol.

Data gap filling		
 Canabigerol		
Endpoint	Resultado	Espécie, duração, tipo de teste, tipo de método, ensaio, cepa, diretriz de teste, ano, referência, banco de dados
Câncer em ratos	Negativo	Organismos de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em Ratos - Modelo dinamarquês DB QSAR CASE Ultra e Leadscope
Câncer em ratos fêmeas	Negativo	Organismos de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em Ratos fêmeas - Modelo dinamarquês DB QSAR CASE Ultra e Leadscope
Câncer em ratos machos	Negativo	Organismos de teste (espécies): Rato Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em Ratos machos - Modelo dinamarquês DB QSAR CASE Ultra e Leadscope
Câncer em camundongos	Negativo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em Camundongos - Modelo dinamarquês DB QSAR CASE Ultra e Leadscope
Câncer em camundongos fêmeas	Negativo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em Camundongos fêmeas - Modelo dinamarquês DB QSAR CASE Ultra
Câncer em camundongo machos	Negativo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em Camundongo machos - Modelo dinamarquês DB QSAR CASE Ultra

Câncer em roedores	Negativo	Organismos de teste (espécies): Roedor Metodologia: QSAR SAR/QSAR: FDA RCA Câncer em Roedores - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i> e <i>Leadscope</i>
Câncer de fígado em ratos ou camundongos	Negativo	Organismos de teste (espécies): Câncer de fígado em rato/camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Câncer de fígado em ratos ou camundongos - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>CASE Ultra</i> e <i>SciQSAR</i>
Câncer de fígado em ratos ou camundongos	Positivo	Organismos de teste (espécies): Câncer de fígado em rato/camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Câncer de fígado em ratos ou camundongos - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>

Fonte: do autor. DB QSAR - banco de dados para relação quantitativa estrutura-atividade; FDA RCA - análise de conformidade regulatória do *Food and Drug Administration*; QSAR – modelo de relação quantitativa estrutura/atividade; SAR - modelo de relação estrutura/atividade.

De acordo com os modelos dinamarqueses *Leadscope*, *CASE Ultra* e *SciQSAR*, a molécula não apresenta risco carcinogênico para os organismos testados, como ratos e camundongos, independentemente do sexo. No entanto, houve divergências nos resultados quando a molécula foi testada especificamente para câncer de fígado em ratos e camundongos: enquanto os modelos *CASE Ultra* e *SciQSAR* indicaram um resultado negativo, o modelo *Leadscope* apresentou um resultado positivo.

A molécula também foi submetida a testes de toxicidade genética pelo modelo de preenchimento de lacuna de dados, como a transformação celular utilizando células de embrião de hamster sírio (SHE), com base em modelos QSAR. Entretanto, os resultados indicam uma divergência nas predições de transformação celular entre os modelos *Leadscope* e *SciQSAR*, com o primeiro sugerindo um potencial de transformação celular e o segundo não indicando esse risco.

Os dados indicam divergências também nos resultados de aberração cromossômica e mutações genéticas, a depender dos modelos QSAR e das cepas celulares utilizadas. Por exemplo, os modelos *Leadscope* e *SciQSAR* concordaram ao não detectar aberrações cromossômicas em células de ovário de hamster chinês (CHO), enquanto o modelo *CASE Ultra* identificou aberrações nas mesmas células.

Da mesma forma, os resultados do teste de mutações letais dominantes em roedores também mostraram divergências entre os modelos, com o *SciQSAR* apontando um resultado positivo e o *Leadscope* indicando um resultado negativo. Para o teste de aberração

cromossômica *in vitro* com células pulmonares de hamster chinês, o modelo *SciQSAR* mostrou um resultado negativo, enquanto na contramão o banco de dados *CASE Ultra* mostrou um resultado positivo. Ainda, o *SciQSAR* registrou um resultado positivo para o ensaio letal dominante realizado em roedores e o *Leadscope* um resultado negativo para o mesmo teste.

Os testes para danos e reparação do DNA foram realizados utilizando diferentes modelos QSAR em ratos e camundongos, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Estes ensaios avaliaram a capacidade da substância de induzir danos no material genético e o subsequente reparo por meio de diferentes metodologias, como: síntese de DNA não programada, que avalia o reparo do DNA em hepatócitos; ensaio de cometa, que mede quebras de DNA em células individuais e ensaio de troca de cromátides irmãs, que verifica possíveis recombinações de DNA durante a replicação celular.

Em todos os testes, os resultados foram negativos, indicando que a substância testada não induziu danos significativos ao DNA nem ativou mecanismos de reparação nas células de camundongos e ratos. Isso sugere que a substância tem baixo potencial genotóxico, de acordo com os dados gerados pelos diferentes modelos QSAR (*Leadscope*, *SciQSAR*, *Battery*, e *CASE Ultra*).

Os testes de mutação genética foram realizados utilizando predições *in silico* para o ensaio de mutação reversa bacteriana, também conhecido como teste de Ames, com *Salmonella typhimurium* como organismo de teste. Os resultados foram variados e indicaram tanto resultados positivos quanto negativos. Nos modelos *Leadscope*, *Battery*, *CASE Ultra* e *SciQSAR*, o teste de Ames em *S. typhimurium* foi negativo, indicando que nas condições do ensaio a substância não causaria mutações no DNA das cepas testadas. Entretanto, a avaliação para o potencial mutagênicos no teste de Ames resultou positivo, sugerindo que a substância testada tem um elevado risco para causar danos genéticos em organismos expostos.

Essas discrepâncias entre os modelos sugerem a importância de considerar múltiplas abordagens na avaliação da toxicidade genética, uma vez que diferentes modelos podem interpretar os mesmos dados de maneira diferente, levando a conclusões variadas.

Ainda, o ensaio para mutação gênica utilizando células de linfoma de camundongo e células de ovário de hamster chinês foi negativo, sugerindo que o CBG não apresenta potencial mutagênico significativo em linhagens celulares de mamíferos. Esses resultados indicam que o CBG é improvável de causar mutações genéticas nessas células, reforçando seu perfil de segurança em relação à genotoxicidade em sistemas biológicos mais complexos. Quanto aos alertas estruturais Ashby, o resultado foi negativo indicando que, com base na estrutura do CBC, não ocorrerá danos ao DNA.

Por fim, a avaliação de mutações no genoma se deu com o teste de ames em *Salmonella typhimurium* e teste do letal recessivo ligado ao sexo em *Drosophila melanogaster*, ambos com resultados negativos, sendo assim, mostrando que o composto possui baixa probabilidade de causar danos genotóxicos.

A seguir, o quadro 10 apresenta um resumo dos resultados obtidos sobre a toxicidade genética do CBG.

QUADRO 10 - *Data gap filling* para toxicidade genética do canabigerol.

<i>Data gap filling</i>		
<i>Endpoint</i>	Resultado	Espécie, duração, tipo de teste, tipo de método, ensaio, cepa, diretriz de teste, ano, referência, banco de dados
Transformação celular	Positivo	Organismos de teste (espécies): Células de embrião de hamster sírio (SHE) Tipo de teste: Ensaio <i>in vitro</i> de transformação celular em mamíferos Tipo de método: <i>in vitro</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Embrião de Hamster Sírio (SHE) Transformação celular - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i>
Transformação celular	Negativo	Organismos de teste (espécies): Células de embrião de hamster sírio (SHE) Tipo de teste: Ensaio <i>in vitro</i> de transformação celular em mamíferos Tipo de método: <i>in vitro</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Embrião de Hamster Sírio (SHE) Transformação celular - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>SciQSAR</i>
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): Hamster chinês Tipo de teste: Teste cromossômico de aberração cromossômica <i>in vitro</i> em mamíferos Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: células de ovário de hamster chinês (CHO) Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Aberração cromossômicas em células de ovário de hamster chinês (CHO) - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i> e <i>SciQSAR</i>

Mutagenicidade	Positivo	Organismos de teste (espécies): Hamster chinês Tipo de teste: Teste cromossômico de aberração cromossômica <i>in vitro</i> em mamíferos Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: células de ovário de hamster chinês (CHO) Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Aberração cromossômica em células de ovário de hamster chinês (CHO) - Modelo dinamarquês DB QSAR CASE <i>Ultra</i>
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): Hamster chinês Tipo de teste: Teste cromossômico de aberração cromossômica <i>in vitro</i> em mamíferos Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: Células pulmonares de hamster chinês (CHL) Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Aberrações cromossômicas em células pulmonares de hamster chinês (CHI) - Modelo dinamarquês DB QSAR SciQSAR
Mutagenicidade	Positivo	Organismos de teste (espécies): Hamster chinês Tipo de teste: Teste cromossômico de aberração cromossômica <i>in vitro</i> em mamíferos Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: Células pulmonares de hamster chinês (CHL) Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Aberração cromossômica em células de pulmão de hamster chinês (CHL) - Modelo dinamarquês DB QSAR CASE <i>Ultra</i>
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): Hamster chinês Tipo de teste: Ensaio de mutação genética em células de mamíferos Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: células de ovário de hamster chinês (CHO) Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Mutações no locus HGPRT (hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase) em células de ovário de hamster chinês (CHO) – Modelo dinamarquês SciDB QSAR
Mutagenicidade	Positivo	Organismos de teste (espécies): Roedor Tipo de teste: Ensaio letal dominante Tipo de método: <i>in vivo</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Mutações letais dominantes em Roedores - Modelo dinamarquês DB QSAR SciQSAR
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): Roedor Tipo de teste: Ensaio letal dominante Tipo de método: <i>in vivo</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Mutações letais dominantes em Roedores - Modelo dinamarquês DB QSAR Leadscope

Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): Rato Tipo de teste: Ensaio de dano e reparo de DNA, Síntese de DNA não programada em células de mamíferos <i>in vitro</i> Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: Hepatócito Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Síntese de DNA não programada (UDS) em hepatócitos de Ratos - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i> , <i>SciQSAR</i> e <i>Battery</i>
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Tipo de teste: Ensaio de eletroforese em gel de célula única (cometa) Tipo de método: <i>in vivo</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Ensaio de cometa em Camundongo - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>SciQSAR</i> e <i>Leadscope</i>
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Tipo de teste: Ensaio de troca de cromátides irmãs em células de mamíferos Tipo de método: <i>in vivo</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Troca de Cromátides Irmãs em Células de Medula Óssea de Camundongos - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>SciQSAR</i> , <i>Battery</i> e <i>CASE Ultra</i>
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): Camundongo Tipo de teste: Ensaio de mutação genética em células de mamíferos Tipo de método: <i>in vitro</i> Cepa: Células de linfoma de Camundongo Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Mutações no locus da timidina cinase em células de linfoma de Camundongo – Modelo dinamarquês <i>CASE Ultra</i> QSAR
Mutagenicidade	Positivo	Organismos de teste (espécies): <i>Salmonella typhimurium</i> Tipo de teste: Ensaio de mutação reversa bacteriana (por exemplo, teste de Ames) Tipo de método: <i>in vitro</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Potentes mutagênicos no teste de Ames - Modelo dinamarquês <i>Leadscope</i> , <i>Battery</i> e <i>SciQSAR</i>

Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): <i>Salmonella typhimurium</i> Tipo de teste: Ensaio de mutação reversa bacteriana (por exemplo, teste de Ames) Tipo de método: <i>in vitro</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: teste de Ames em <i>S. typhimurium</i> (<i>in vitro</i>) - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i> , <i>Battery</i> , <i>CASE Ultra</i> e <i>SciQSAR</i>
Mutagenicidade	Negativo	Organismos de teste (espécies): <i>Drosophila melanogaster</i> Tipo de teste: teste SLRL (letal recessivo ligado ao sexo) com <i>Drosophila</i> Tipo de método: <i>in vivo</i> Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Teste letal recessivo ligado ao sexo (SLRL) em <i>D. melanogaster</i> . - Modelo dinamarquês DB QSAR <i>Leadscope</i> , <i>SciQSAR</i> e <i>CASE Ultra</i>
Mutagenicidade	Negativo	Tipo de teste: Alertas estruturais para reatividade de DNA relacionada ao câncer Metodologia: QSAR SAR/QSAR: Alertas Estruturais Ashby – Modelo dinamarquês <i>CASE Ultra</i> , <i>SciQSAR</i> , <i>Battery</i> e <i>Leadscope</i>

Fonte: do autor. DB QSAR - banco de dados para relação quantitativa estrutura-atividade; QSAR – modelo de relação quantitativa estrutura/atividade; SAR - modelo de relação estrutura/atividade.

5.5 ÁCIDO CANABIGERÓLICO

O CBGA não apresentou alertas estruturais para os *endpoints* de toxicidade aguda e crônica, tanto no módulo de criação de perfil quanto no módulo de preenchimento de lacunas de dados (*data gap filling*).

Ademais, o CBGA foi avaliado por predições para o teste de Ames e teste do micronúcleo, para detectar mutagenicidade, além de análises de carcinogenicidade genotóxica e não genotóxica, e ligação ao receptor de ácido retinóico. Foram identificados alertas estruturais para alquilbenzenos no teste de Ames, bem como para carcinogenicidade genotóxica e alertas para aceptor de hidrogênio para o teste do micronúcleo.

6 DISCUSSÃO

Os resultados da análise de toxicidade aguda no módulo de criação de perfil revelaram dados importantes sobre as moléculas estudadas: CBD, THC, CBC, CBG e CBGA.

No caso das moléculas testadas, a análise de toxicidade aguda indicou a presença de derivados de resorcinol para o CBD e CBG. O resorcinol é conhecido por apresentar toxicidade aguda, devido à hidroxilação do anel aromático, que resulta em metabólitos reativos capazes de causar lesões teciduais, especialmente em exposições orais (Kim; Matthews, 1987). Essa reatividade química pode estar associada a um leve a moderado aumento nos níveis séricos de aminotransferase (TGO e TGP) em pacientes submetidos a terapias com baixas doses de CBD, entre 200 a 400 mg por dia (LIVERTOX, 2012). No entanto, não houve relatos de lesões hepáticas significativas relacionadas ao uso do CBD nessas dosagens (LIVERTOX, 2012).

Em relação à toxicidade crônica, os alertas foram identificados para o CBG, especificamente relacionados a fenóis pertencentes à classe C, conhecidos por seu potencial de irritar a membrana mucosa. Além disso, os testes de potencial mutagênico, de acordo com o modelo OASIS, detectaram a presença de fenóis hidroxilados no CBD. O fenol é conhecido por ser irritante e corrosivo em todas as vias de exposição, incluindo a inalatória, oral e dérmica, o que pode limitar o uso terapêutico prolongado de derivados de CBG em concentrações elevadas, sem a devida adoção de medidas de mitigação (ATSDR, 2008).

Os fenóis hidroxilados, que possuem dois ou mais grupos hidroxila em sua estrutura, podem induzir mutagenicidade principalmente pela geração de EROs (Sui *et al.*, 2024). Esses compostos podem ser oxidados enzimaticamente, por exemplo, por peroxidases, formando quinonas ou semiquinonas altamente reativas (Zhou *et al.*, 2021). Essas substâncias participam de reações redox que produzem EROs, as quais podem interferir nos processos mitóticos, causando falhas na divisão celular (Sridharan *et al.*, 2015).

Os resultados das predições relacionadas a testes de mutagenicidade *in vitro*, realizados pelo ISS, indicaram a presença de alquilbenzenos nas moléculas de CBG e CBGA, sugerindo potencial mutagênico dessas substâncias. Em relação à carcinogenicidade, foi identificado um único alerta, relacionado à carcinogenicidade genotóxica, também atribuído à presença de alquilbenzenos nas mesmas moléculas. Os alquilbenzenos estão presentes em compostos naturalmente encontrados em flavonoides, como o safrol, metileugenol e estragol (Rietjens *et al.*, 2005). O mecanismo de toxicidade desses compostos ocorre por meio da hidroxilação do carbono benzílico da cadeia lateral alquênica (Rietjens *et al.*, 2005). O produto formado então passa por uma sulfonação, resultando em um derivado instável que rapidamente se converte em um carbocátion, o qual é o metabólito eletrofílico e carcinogênico final (Rietjens *et al.*, 2005).

Enquanto a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) classifica safrol, metileugenol e estragol como genotóxicos e cancerígenos, recomendando sua restrição de uso, especialistas da Associação de Fabricantes de Sabores e Extratos (FEMA) afirmam que estes compostos não apresentam risco significativo de câncer em humanos, argumentando que a formação de adutos com o DNA não foi observada após administração *in vivo* (Smith *et al.*, 2002; Rietjens *et al.*, 2005). Essa diferença de avaliação é atribuída à rápida metabolização desses compostos, que são eficientemente excretados devido à conjugação combinada de hidrolases e glutatona (Smith *et al.*, 2002; Rietjens *et al.*, 2005).

No teste relacionado a mutagenicidade *in vivo* (teste do micronúcleo) também realizado pelo ISS, foram identificados alertas para aceptores de hidrogênio no CBGA. O alerta de aceitor de hidrogênio indica a presença de dois átomos conectados a dois aceitadores de ligações de hidrogênio, sugerindo a possibilidade de a molécula interagir com o DNA e/ou proteínas por meio de ligações não covalentes (Snyder; Ewing; Hendry, 2006).

A genotoxicidade, pode estar associada a interação entre o xenobiótico e o DNA, devido à formação de ligações de hidrogênio, o que leva a intercalação, que sofre remoção pelo sistema de reparo e pode ou não ser corrigida durante o processo de checagem, quando não há correção, resulta em mutações “*frameshift*” e quebra cromossômica (Snyder; Ewing; Hendry, 2006; Snyder *et al.*, 2005).

O quadro abaixo demonstra as diferenças entre os alertas estruturais encontrados nas moléculas estudadas.

QUADRO 11 - Comparação dos alertas estruturais encontrados nas moléculas CBD, THC, CBC, CBG e CBGA.

Molécula estudada	Endpoint	Alerta estrutural	Achados principais
CBD	Toxicidade aguda	Derivados de resorcinol	Leve a moderado aumento nos níveis de TGO e TGP
	Mutagenicidade	Fenóis hidroxilados	Geração de EROs
THC	-	-	-
CBC	-	-	-
CBG	Toxicidade aguda	Derivados de resorcinol	Leve a moderado aumento nos níveis de TGO e TGP
	Toxicidade crônica	Fenóis	Irritante e corrosivo em altas doses
	Mutagenicidade <i>in vitro</i>	Alquilbenzenos	Formação de metabólito eletrofílico

	Carcinogenicidade genotóxica	Alquilbenzenos	
CBGA	Mutagenicidade <i>in vitro</i>	Alquilbenzenos	
	Mutagenicidade <i>in vivo</i>	Aceptor de hidrogênio	Mutações “frameshift” e quebra cromossômica
	Carcinogenicidade genotóxica	Alquilbenzenos	Formação de metabólito eletrofílico

Fonte: do autor. TGO - transaminase oxalacética; TGP - transaminase pirúvica; EROs – espécies reativas de oxigênio.

Em suma, os resultados apontam para potenciais riscos mutagênicos e carcinogênicos em algumas das moléculas testadas, particularmente o CBD, CBG e CBGA, que apresentaram alertas para fenóis hidroxilados, alquilbenzenos e aceptores de hidrogênio.

Ainda, o CBD e o CBG apresentaram alertas para toxicidade aguda e crônica, como derivados de resorcinol e fenóis, respectivamente. Esses achados indicam a necessidade de investigação mais aprofundada sobre os efeitos tóxicos dessas substâncias, para confirmar e entender melhor os mecanismos tóxicos, além de melhor entender a relação entre dose, exposição e efeito.

Para o THC e o CBC, não é possível determinar um perfil toxicológico conclusivo. Isso pode ser devido a duas hipóteses: ou os dados disponíveis eram insuficientes, ou essas substâncias realmente não apresentaram alertas estruturais relevantes para os *endpoints* testados.

Por fim, nenhuma das moléculas testadas (CBD, THC, CBC, CBG e CBGA) apresentou alertas para ligação ao receptor de ácido retinóico. Provavelmente estes compostos não possuem o risco de teratogênese ou efeitos relacionados ao desenvolvimento embrionário, pois não se ligam ao receptor retinoide, responsável pelo crescimento celular e organogênese (Kam *et al.*, 2012).

No módulo “*data gap filling*”, utilizado para preencher lacunas de dados toxicológicos por meio de técnicas de “*read-across*”, tendência de dados e modelos QSAR, foi possível obter informações relevantes sobre a toxicidade aguda, crônica, carcinogenicidade e toxicidade genética de vários fitocanabinoides.

Em relação aos “*endpoints*” avaliados neste módulo — toxicidade aguda e crônica, carcinogenicidade e toxicidade genética —, não foi possível obter dados disponíveis sobre o CBGA nos bancos de dados, evidenciando uma lacuna nas informações toxicológicas dessa molécula. Isso ressalta a necessidade de estudos futuros para avaliar sua toxicidade.

Os dados da predição de toxicidade aguda indicaram os seguintes valores para a dose letal média.

Para o CBD a DL_{50} (dose letal para 50% dos indivíduos) sugerida foi 40,7 mg/kg em camundongos quando administrado por via intravenosa e 530 mg/kg por via subcutânea. Esses valores indicam que o CBD é significativamente menos tóxico quando administrado por via subcutânea em comparação com a via intravenosa. A DL_{50} é uma medida utilizada para avaliar a toxicidade de uma substância, e esses resultados sugerem que a toxicidade do CBD varia de acordo com o método de administração. No entanto, é importante destacar que os dados são baseados em experimentos com camundongos, e a extrapolação para humanos deve ser feita com cautela, sendo necessário realizar mais estudos para compreender os efeitos em seres humanos.

O THC apresentou DL_{50} de 666 mg/kg em um estudo indicado pelo *software*, realizados com ratos em 2012, com uma duração de 24 horas.

Entretanto, Phillips, Turk e Forney (1971), observaram diferentes DL_{50} para o THC dependendo da via de administração: para ratos, a DL_{50} foi de 28,6 mg/kg por via intravenosa, 372,9 mg/kg por via intraperitoneal, e 666,1 mg/kg por via intragástrica. Para camundongos, os valores foram 42,47 mg/kg (intravenosa), 454,5 mg/kg (intraperitoneal), e 481,9 mg/kg (intragástrica) (Phillips; Turk; Forney, 1971).

O CBC apresentou DL_{50} de 160 mg/kg quando administrado por via intraperitoneal em camundongos. Comparado ao CBG, que possui uma DL_{50} semelhante, esses valores indicam que ambos os compostos exibem perfis de toxicidade aguda similar.

O CBG apresentou DL_{50} de 150 mg/kg quando administrado por via intraperitoneal e DL_{50} de 42,1 mg/kg por via intravenosa, ambas em camundongos. Assim como o CBD, o CBG mostrou-se mais tóxico quando administrado por via intravenosa, sugerindo que essa via deve ser utilizada com cautela, devido ao aumento do risco de toxicidade.

Para fins de comparação, a risperidona, um antipsicótico amplamente utilizado no tratamento de esquizofrenia, mania bipolar e como adjuvante na depressão grave, possui DL_{50} de 34 mg/kg em administração intravenosa em ratos (DRUGBANK, 2005). Isso destaca que, embora o CBD e o CBG tenham um perfil de toxicidade moderada em camundongos, sua toxicidade intravenosa é comparável à de medicamentos farmacologicamente potentes e disponíveis no mercado.

O quadro a seguir ilustra as diferenças de DL_{50} para as moléculas testadas.

QUADRO 12 - Comparação do *endpoint* DL_{50} para as moléculas CBD, THC, CBC, CBG e CBGA.

Molécula estudada	Endpoint	Resultado	Via de administração	Organismo de teste
CBD	DL ₅₀	40,7 mg/kg	Intravenosa	Camundongos
		530 mg/kg	Subcutânea	Camundongos
THC	DL ₅₀	666 mg/kg	Oral	Ratos
CBC	DL ₅₀	160 mg/kg	Intraperitoneal	Camundongos
CBG	DL ₅₀	150 mg/kg	Intraperitoneal	Camundongos
		42,1 mg/kg	Intravenosa	Camundongos
CBGA	DL ₅₀	-	-	-

Fonte: do autor. DL₅₀ – dose letal média; mg/kg – miligrama por quilo.

Embora algumas moléculas apresentem toxicidade dependendo da via de administração, ainda existem lacunas de conhecimento. Um exemplo é o CBGA, para o qual o *software* não conseguiu identificar informações sobre sua DL₅₀.

A avaliação da toxicidade de dose repetida forneceu dados sobre os efeitos adversos potenciais das moléculas testadas. Este tipo de teste é crucial para identificar os impactos de exposições prolongadas e frequentes a essas substâncias, especialmente em cenários terapêuticos para caracterizar o perfil toxicológicos de novos fármacos (Lavandeira, 2014).

O CBD apresentou resultado positivo para toxicidade de dose repetida, sugerindo a presença de efeitos adversos indesejados quando administrado em doses contínuas.

Em um estudo realizado em 2023 para avaliar a toxicidade de dose repetida do CBD, camundongos foram tratados por 90 dias com doses de 0,75, 125 e 175 mg/kg de extrato de canabidiol (Clewell *et al.*, 2023). Os resultados não indicaram resposta toxicológica significativa, no entanto, foi observado aumento no tamanho do fígado e das glândulas adrenais em comparação com o grupo controle, o que foi interpretado como uma resposta adaptativa ao consumo do extrato, e não como um efeito tóxico relevante (Clewell *et al.*, 2023).

Ainda, em 2023 em estudo para observar o impacto da administração crônica de canabidiol em ratos, observou-se que após 90 dias recebendo 200 mg/kg de CBD, os ratos não apresentaram alterações neuroquímicas e neuromotoras (Oliveira *et al.*, 2023).

Esses achados ressaltam a importância de monitorar a dosagem e a frequência de administração do CBD, principalmente em pacientes que o utilizam em tratamentos de longo prazo, como para epilepsia refratária ou transtornos de ansiedade. Embora o CBD seja geralmente considerado seguro em curto prazo, são necessários mais estudos para entender

plenamente seus riscos em uso prolongado e os mecanismos envolvidos na toxicidade de dose repetida.

Para o THC, foi identificado valor de NOEL (*No Observed Effect Level*) de 50 mg/kg em teste de teratologia realizado em 1989, com duração de 21 dias (Hutchings, Brake e Morgan, 1989). O NOEL é a dose mais alta em que não foram observados efeitos adversos, e este valor fornece uma referência importante para determinar limites seguros de exposição ao THC em estudos subsequentes, por exemplo (Damiani *et al.*, 2021).

No estudo de Hutchings, Brake e Morgan de 1989, indicado pelo *software*, observou-se que ratas prenhas tratadas com uma dose de 50 mg/kg de THC geraram maior proporção de descendentes machos, sugerindo que as fêmeas são mais suscetíveis à toxicidade do THC (Hutchings, Brake e Morgan, 1989). Além disso, no período pós-natal, foi identificada inibição no crescimento e na síntese de proteínas cerebrais da prole, a depender da dose (Hutchings, Brake e Morgan, 1989). No entanto, esses efeitos foram transitórios, e os filhotes expostos ao THC eventualmente atingiram o peso do grupo controle (Hutchings, Brake e Morgan, 1989). Mais estudos são necessários para explorar possíveis efeitos reprodutivos a longo prazo e avaliar a segurança do THC em diferentes estágios de desenvolvimento.

A avaliação *in silico* do CBC e do CBG apresentou resultados divergentes em relação à dose diária máxima recomendada para humanos. Enquanto um dos métodos recomendou a dose diária em valores iguais ou inferiores a 2,69 mg/kg, o outro identificou toxicidade nessa mesma dose, não a considerando adequada como dose diária. Vale destacar que o valor da dose diária máxima recomendada varia conforme a substância. Por exemplo, o atracúrio, um adjuvante da anestesia geral, possui uma dose máxima de 0,6 mg/kg/diaia, enquanto a cefalotina, um medicamento antibacteriano, pode alcançar até 12 g/dia (Muniz; Moraes; Araújo, 2018). No caso do CBC e do CBG, no entanto, ainda não há diretrizes clínicas estabelecidas que definam uma dose diária máxima recomendada.

Foram observados tanto resultados positivos quanto negativos, o que sugere incerteza em relação ao potencial de toxicidade dessas moléculas quando administradas repetidamente. Essas divergências podem ser decorrentes de variações nos modelos preditivos ou nas condições experimentais utilizadas, indicando que mais estudos são necessários para determinar com precisão a segurança dessas moléculas em administrações contínuas.

Os dados sobre a toxicidade de dose repetida destacam a importância de considerar os efeitos adversos associados ao uso prolongado das moléculas testadas, particularmente no caso do CBD e do THC, que demonstraram potenciais preocupações toxicológicas. Os resultados divergentes para o CBC e CBG indicam a necessidade de mais estudos para

esclarecer seus efeitos em exposições prolongadas, enquanto a falta de informações para o CBGA reforça a necessidade de pesquisas adicionais para preencher essas lacunas.

Em relação a predição de carcinogenicidade, os resultados do CBD foram negativos para todos os organismos, incluindo ratos (fêmeas e machos), camundongos e outros roedores. As avaliações incluíram estudos específicos focados no câncer de fígado em ratos e camundongos, que não apresentaram evidências de tumorigenicidade após a administração de CBD. Isso sugere que o CBD, de acordo com os modelos testados, não apresenta risco significativo de carcinogenicidade, reforçando seu perfil de segurança em termos de desenvolvimento de câncer.

Para o THC, os resultados da predição de carcinogenicidade foram negativos em ratos (fêmeas e machos), roedores em geral e na avaliação para câncer de fígado em ratos e camundongos. No entanto, o THC apresentou resultados positivos para carcinogenicidade em camundongos (fêmeas e machos) no modelo do banco de dados *Leadscope*. Esse resultado sugere que, embora o THC tenha mostrado segurança em outros modelos, pode haver um potencial carcinogênico em pelo menos uma espécie, o que exige investigação mais aprofundada. A presença de resultados positivos em um único modelo pode indicar vulnerabilidade biológica específica ou uma sensibilidade dos camundongos à exposição prolongada ao THC.

O CBC apresentou resultados negativos para carcinogenicidade em ratos (fêmeas e machos), camundongos fêmeas, roedores em geral, e na análise de câncer de fígado em ratos e camundongos. No entanto, o CBC demonstrou resultado positivo para camundongos machos no modelo *Leadscope*. Esse achado reforça a necessidade de mais estudos para entender o mecanismo pelo qual o CBC pode induzir carcinogenicidade específica em camundongos machos, visto que outros modelos e espécies não indicaram o mesmo risco.

O CBG apresentou resultados negativos para carcinogenicidade em ratos (fêmeas e machos), camundongos (fêmeas e machos), roedores em geral, e para câncer de fígado em ratos e camundongos, de acordo com os bancos de dados *CASE Ultra* e *SciQSAR*. Contudo, o modelo *Leadscope* apontou resultado positivo para câncer de fígado em ratos e camundongos. A diferença entre os resultados pode estar associada a diferentes critérios e métodos de análise nos bancos de dados utilizados. Cada banco de dados pode empregar variações nos parâmetros de avaliação, na escolha de linhagens de animais, nas condições experimentais ou na sensibilidade dos métodos aplicados para detectar carcinogenicidade. Devido as inconsistências dos resultados é importante a realização de uma avaliação adicional por meio de estudos complementares para melhorar a acurácia da avaliação de risco.

O quadro abaixo demonstra a comparação da carcinogenicidade para as moléculas estudadas.

QUADRO 13 - Comparação do *endpoint* de carcinogenicidade para as moléculas CBD, THC, CBC, CBG e CBGA.

Molécula estudada	Endpoint	Resultado	Organismo de teste	Banco de dados
CBD	Carcinogenicidade	Negativo	Ratos (fêmeas e machos); Camundongos; Roedores em geral; Câncer de fígado em ratos e camundongos.	CASE Ultra e Leadscope
THC	Carcinogenicidade	Positivo	Camundongos (fêmeas e machos)	Leadscope
		Negativo	Ratos (fêmeas e machos); Roedores em geral; Câncer de fígado em ratos e camundongos.	CASE Ultra e Leadscope
CBC	Carcinogenicidade	Positivo	Camundongos (machos)	Leadscope
		Negativo	Ratos (fêmeas e machos); Camundongos (fêmeas); Roedores em geral; Câncer de fígado em rato/camundongo.	CASE Ultra, Battery e Leadscope
CBG	Carcinogenicidade	Positivo	Câncer de fígado em rato/camundongo	Leadscope
		Negativo	Ratos (fêmeas e machos); Camundongos (fêmeas e machos); Roedores em geral; Câncer de fígado em rato/camundongo.	CASE Ultra Leadscope e SciQSAR
CBGA	Carcinogenicidade	-	-	

Fonte: do autor.

No geral, a avaliação de carcinogenicidade dos compostos revelou que o CBD parece ser o mais seguro, com resultados consistentemente negativos em todos os modelos e organismos avaliados. Entretanto, o THC, CBC e CBG apresentaram resultados positivos para carcinogenicidade em camundongos, especialmente no modelo *Leadscope*. Essas divergências

entre os modelos preditivos e as espécies testadas indicam que os efeitos carcinogênicos dessas moléculas podem ser específicos para certos organismos e que mais estudos são necessários para compreender esses mecanismos em detalhes, particularmente em camundongos.

A toxicidade genética do CBD apresentou resultados negativos para a predição relacionada ao ensaio de mutação reversa bacteriana em *Salmonella typhimurium* (teste de Ames), bem como para os alertas estruturais relacionados à reatividade de DNA associada ao câncer. Esses achados indicam que aparentemente o CBD não apresenta um potencial mutagênico significativo nem parece interagir diretamente com o DNA de modo a causar mutações ou danos.

No entanto, o CBD apresentou um resultado positivo no ensaio de micronúcleo para a classe Mammalia, sugerindo que, embora o composto não cause mutações genéticas diretas, ele pode afetar a integridade cromossômica em organismos complexos. Esse resultado indica a necessidade de investigações mais detalhadas sobre os mecanismos de ação do CBD em relação a danos cromossômicos, especialmente em casos de exposição prolongada ou em doses elevadas.

Em contraste, o THC apresentou resultados negativos tanto para aberração cromossômica quanto para mutação genética em diferentes cepas de *Salmonella typhimurium*, reforçando um perfil de segurança em termos de mutagenicidade em testes bacterianos e células de mamíferos. Estes achados sugerem que, nas condições experimentais avaliadas, o THC não parece induzir mutações nem provocar alterações cromossômicas significativas.

A Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) corrobora essa observação, afirmando que o THC não apresenta potencial mutagênico (IARC, 2014). A IARC atribui os resultados positivos em testes de Ames e de irritação cutânea em camundongos, observados em alguns ensaios *in vitro*, à ação citotóxica do composto (IARC, 2014). Os resultados também validam os dados dos testes de alertas estruturais, nos quais o THC não apresentou indicativos de mutagenicidade ou carcinogenicidade. No entanto, os resultados obtidos reforçam a necessidade de mais estudos para investigar possíveis efeitos em diferentes organismos ou em exposições prolongadas.

Por outro lado, os resultados para o CBC e o CBG mostraram divergências significativas, sugerindo potencial genotóxico dessas substâncias. A dualidade nos resultados, com alguns testes indicando ausência de mutagenicidade e outros sugerindo possíveis efeitos genotóxicos, aponta para uma possível instabilidade genética associada a exposição a estas substâncias. Isso sugere que, embora o composto possa não ser consistentemente genotóxico, ele pode apresentar riscos sob certas condições ou exposições específicas. Estudos adicionais

são necessários para esclarecer essa ambiguidade, particularmente utilizando diferentes modelos biológicos e variações de via e tempo de exposição. Além disso, a avaliação do potencial para causar danos e interferir na reparação do DNA indicaram que o CBG não causa danos diretos ao DNA, reforçando a hipótese de que os potenciais efeitos genotóxicos observados podem estar relacionados a mecanismos indiretos.

Segundo Kolar, Bankoglu e Stopper (2024), o CBD, CBC e CBG foram avaliados quanto ao seu potencial genotóxico e aos efeitos na mitose e no ciclo celular de células linfoblastoides TK6 humanas (Kolar; Bankoglu; Stopper, 2024). Esses compostos demonstraram aumentar a formação de micronúcleos, sugerindo falhas na maquinaria de reparo celular ou acúmulo de danos ao DNA, como aberrações cromossômicas ou perdas de cromossomos. Entretanto, após a metabolização, houve uma redução desses efeitos. Vale destacar que os efeitos genotóxicos foram observados apenas em concentrações 1000 vezes superiores às recomendadas para consumo humano (Kolar; Bankoglu; Stopper, 2024). Embora o mecanismo exato permaneça incerto, foi sugerido que os fitocanabinoides testados podem ser genotóxicos por interferirem na mitose, afetando a tubulina, proteína responsável pela segregação cromossômica durante a divisão celular, o que resulta em segregação inadequada de cromossomos (Kolar; Bankoglu; Stopper, 2024). Como apenas a maquinaria mitótica parece ser afetada, e não o DNA em si, é possível que a ingestão de fitocanabinoides seja segura quando administrada em doses menores (Kolar; Bankoglu; Stopper, 2024).

Os estudos sobre a genotoxicidade dos fitocanabinoides ainda são inconclusivos.

Enquanto Aviello *et al.* (2012) mostraram que o CBD não causou danos ao DNA em ensaios do cometa em células derivadas do cólon, Russo *et al.* (2019) relataram uma indução significativa de micronúcleos com CBD em células de hepatoma humano (Aviello *et al.*, 2012; Russo *et al.*, 2019). Além disso, Henderson *et al.* (2023) observou que não houve formação de micronúcleos em células linfoblastoides TK6 humanas (Henderson *et al.*, 2023).

Estudos adicionais com extratos de *C. sativa* contendo diferentes concentrações de CBD — aproximadamente 96% (Marx *et al.*, 2018), 6,27% (Dziwenka *et al.*, 2020), 8% (Dziwenka *et al.*, 2023) e cerca de 85% (Clewell *et al.*, 2023) — também indicaram resultados negativos para a exposição desses extratos em ensaios de mutação reversa bacteriana, testes de aberrações cromossômicas e ensaios de micronúcleo, além de não demonstrar potencial genotóxico em ensaios *in vivo* (Marx *et al.*, 2018; Dziwenka *et al.*, 2020; 2023; Clewell *et al.*, 2023).

O quadro abaixo demonstra a comparação da toxicidade genética para as moléculas estudadas.

QUADRO 14 - Comparação do *endpoint* de toxicidade genética para as moléculas CBD, THC, CBC, CBG e CBGA.

Molécula estudada	Endpoint	Resultado	Organismo de teste	Tipo de teste	Banco de dados
CBD	Mutagenicidade	Positivo	Mammalia	Ensaio de micronúcleo	Micronúcleo OASIS
		Negativo	<i>Salmonella typhimurium</i>	Ensaio de mutação reversa bacteriana <i>in vitro</i>	Battery, CASE Ultra, Leadscope e SciQSAR
			-	Alertas estruturais para reatividade de DNA relacionada ao câncer	DB QSAR
THC	Mutagenicidade	Negativo	-	Ensaio de micronúcleo	Micronucleus OASIS
			<i>Salmonella typhimurium</i>	Ensaio de mutação reversa bacteriana <i>in vitro</i>	Genotoxicidade OASIS
CBC	Transformação celular	Positivo	Células de embrião de hamster sírio	Ensaio de transformação em células de mamíferos <i>in vitro</i>	Leadscope
		Negativo			SciQSAR
	Mutagenicidade	Positivo	Camundongo	Teste de aberração cromossômica em mamíferos <i>in vivo</i>	CASE Ultra, Battery e Leadscope
				Ensaio de mutação genética em células de mamíferos <i>in vitro</i>	Leadscope
				Ensaio de troca de cromátides irmãs em células de mamíferos <i>in vivo</i>	Leadscope
			Hamster chinês (células de pulmão)	Teste de aberração cromossômica em mamíferos <i>in vitro</i>	CASE Ultra

CBG		Negativo	Hamster chinês (células de pulmão)	Teste de aberração cromossômica em mamíferos <i>in vitro</i>	<i>SciQSAR e Leadscope</i>
			Roedores em geral	Teste do dominante letal <i>in vivo</i>	<i>Battery, SciQSAR e Leadscope</i>
			Camundongo	Ensaio de eletroforese em gel de célula única (cometa) <i>in vivo</i>	<i>Battery, Leadscope e SciQSAR</i>
			<i>Salmonella typhimurium</i>	Ensaio de mutação reversa bacteriana <i>in vitro</i>	<i>Battery, CASE Ultra, Leadscope e SciQSAR</i>
			-	Alertas estruturais para reatividade de DNA relacionada ao câncer	<i>Battery, SciQSAR e CASE Ultra</i>
	Transformação celular	Positivo	Células de embrião de hamster sírio	Ensaio de transformação celular em mamíferos <i>in vitro</i>	<i>Leadscope</i>
		Negativo			<i>SciQSAR</i>
	Mutagenicidade	Positivo	Hamster chinês (células de ovário e pulmonares)	Teste de aberração cromossômica em mamíferos <i>in vitro</i>	<i>CASE Ultra</i>
			Roedores em geral	Ensaio letal dominante <i>in vivo</i>	<i>SciQSAR</i>
			<i>Salmonella typhimurium</i>	Ensaio de mutação reversa bacteriana <i>in vitro</i>	<i>Leadscope, Battery e SciQSAR</i>
		Negativo	Hamster chinês (células de ovário e pulmonares)	Teste de aberração cromossômica em mamíferos <i>in vitro</i>	<i>Leadscope e SciQSAR</i>
			Hamster chinês (células de ovário)	Ensaio de mutação genética em células de mamíferos <i>in vitro</i>	<i>SciQSAR</i>
			Ratos	Ensaio de dano e reparo de DNA, síntese de DNA não programada em células de	<i>Leadscope, SciQSAR e Battery</i>

				mamíferos <i>in vitro</i>	
			Roedores em geral	Ensaio letal dominante <i>in vivo</i>	<i>Leadscope</i>
			Camundongo	Ensaio de mutação genética em células de mamíferos <i>in vitro</i>	<i>CASE Ultra</i>
				Ensaio de eletroforese em gel de célula única (cometa) <i>in vivo</i>	<i>SciQSAR</i> , e <i>Leadscope</i>
				Ensaio de troca de cromátides irmãs em células de mamíferos <i>in vivo</i>	<i>SciQSAR</i> , <i>Battery</i> e <i>CASE Ultra</i>
			<i>Salmonella typhimurium</i>	Ensaio de mutação reversa bacteriana <i>in vitro</i>	<i>Leadscope</i> , <i>Battery</i> , <i>CASE Ultra</i> e <i>SciQSAR</i>
			<i>Drosophila melanogaster</i>	Teste do letal recessivo ligado ao sexo <i>in vivo</i>	<i>Leadscope</i> , <i>SciQSAR</i> e <i>CASE Ultra</i>
			-	Alertas estruturais para reatividade de DNA relacionada ao câncer	<i>CASE Ultra</i> , <i>SciQSAR</i> , <i>Battery</i> e <i>Leadscope</i>
CBGA	-	-	-	-	-

Fonte: do autor. DB QSAR - banco de dados para relação quantitativa estrutura-atividade.

Em resumo, embora os fitocanabinoides apresentem um certo grau de toxicidade, é importante destacar que suas concentrações reduzem progressivamente com a exposição ao calor ou à luz ultravioleta, o que resulta em uma diminuição correspondente de sua toxicidade (Rastely, 2023).

Na planta madura, o CBG geralmente representa menos de 1% do conteúdo total de fitocanabinoides (Perez *et al.*, 2022). Sua forma ácida, o CBGA, é majoritariamente convertida em THCA, CBDA e CBCA, os precursores ácidos do THC, CBD e CBC, respectivamente (Taura *et al.*, 2007).

Além disso, o THC é convertido em canabinol (CBN) devido à oxidação causada por fatores como temperatura, umidade e exposição ao ar (Rastely, 2023). De maneira similar,

o CBD pode ser transformado em canabinodiol (CBND), enquanto o CBC, quando oxidado, dá origem ao canabíciclol (CBL) (Rastely, 2023; Russo *et al.*, 2008).

Devido à escassez de ensaios sobre a mutagenicidade e carcinogenicidade desses compostos, bem como à natureza ambígua dos resultados obtidos até agora, torna-se indispensável realizar investigações mais aprofundadas para compreender melhor seus mecanismos de ação e os riscos potenciais em diferentes contextos biológicos. Apesar do potencial terapêutico dos fitocanabinoides, é essencial avaliar cuidadosamente os possíveis riscos associados a cada substância.

7 CONCLUSÃO

Através dos resultados, foi possível concluir que as ferramentas *in silico* são capazes de identificar alertas estruturais que podem representar potenciais riscos à toxicidade dessas substâncias, contribuindo para otimizar etapas do desenvolvimento de novos fármacos.

Embora muitos dos resultados encontrados estejam em consonância com a literatura disponível, a quantidade de estudos sobre a toxicidade dos fitocanabinoides ainda é limitada.

O perfil de toxicidade dos compostos estudados é, de modo geral, considerado relativamente seguro. No entanto, alguns fitocanabinoides apresentaram alertas para toxicidade aguda, crônica, carcinogenicidade e mutagenicidade, indicando a necessidade de cautela em seu uso, especialmente em doses elevadas ou com exposição prolongada.

Nos testes de carcinogenicidade, o CBD não apresentou resultados positivos, indicando ausência de potencial para desenvolvimento de câncer. Em contraste, o THC, CBC e CBG demonstraram diferentes graus de risco em alguns dos parâmetros avaliados.

Em relação à toxicidade genética, o THC foi o único canabinoide que não apresentou resultados positivos, enquanto o CBD, CBC e CBG mostraram, em alguns casos, potencial para causar alterações genéticas sob condições específicas de exposição. Esses dados indicam uma variabilidade significativa nos perfis de segurança dos fitocanabinoides, com o CBD se destacando como o mais seguro em termos de carcinogenicidade e o THC como o mais seguro em relação à toxicidade genética.

Estudos de toxicidade aguda, crônica, mutagenicidade e carcinogenicidade são essenciais para garantir que o uso da cannabis medicinal e de seus fitocanabinoides seja seguro. Eles permitem a identificação de riscos potenciais, a definição de dosagens seguras e a compreensão dos efeitos a longo prazo, assegurando que a terapia com fitocanabinoides não

introduza novos problemas de saúde, como câncer ou danos em órgãos vitais. Além disso, essas pesquisas fornecem uma base sólida para regulamentações e desenvolvimento de medicamentos fitocanabinoides seguros e inovadores.

REFERÊNCIAS

- ABRACE - Associação Brasileira de Apoio Cannabis Esperança. **Anvisa inclui a planta da maconha na Farmacopeia Brasileira**. [S. l.], 22 nov. 2024. Disponível em: <https://abraceesperanca.org.br/anvisa-inclui-a-planta-da-maconha-na-farmacopeia-brasileira/#abrace>. Acesso em: 17 dez. 2024.
- ABREU, A. T. F. D. M. **O Rimonabant como fármaco anti-obesidade**. 2011. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina) - Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Portugal, 2011.
- ABUDALU, M. *et al.* Polyglactin 910 meshes coated with sustained-release cannabigerol varnish inhibit *Staphylococcus aureus* biofilm formation and macrophage cytokine secretion: an *in vitro* study. **J Pharm.**, v. 16, n. 5, p. 745–745, 13 maio 2023.
- ABYADEH, M. *et al.* A proteomic view of cellular and molecular effects of *Cannabis*. **Biomol.**, v. 11, n. 10, p. 1411–1411, 2021.
- Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (IARC). **Relatório do Grupo Consultivo para Recomendar Prioridades para Monografias da IARC durante 2015–2019**. Monografias da IARC sobre a Avaliação do Risco Carcinogênico para Humanos. Lyon: IARC; 2014. Disponível em: <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/08/14-002.pdf>. Acesso em: 11 out. 2024.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **Toxicological profile for Phenol**. Atlanta, GA: ATSDR, 2008. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-115.pdf>. Acesso em: 9 out 2024.
- AGUIAR, G. N. **Teoria do etiquetamento social, criminalização e estigmatização de jovens periféricos**. 2021. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Social) - Universidade Estadual de Montes Claros, Minas Gerais, 2021.
- ALVARADO, R. I. N.; SÁNCHEZ, R. M. D. C.; SALCEDO, V. V. Therapeutic properties of cannabinoid drugs and marijuana in several disorders: A narrative review. **Salud Ment.**, v. 40, n. 3, 2017.
- ALVES, V. M. *et al.* Quimioinformática: uma introdução. **Quim Nova**, v. 41, n. 2, p. 202-212, 2018.
- ANAND, U. *et al.* Cannabis-based medicines and pain: a review of potential synergistic and entourage effects. **Pain Manag.**, v. 11, n. 4, p. 395–403, 11 mar. 2021.
- ANDRE, C. M; HAUSMAN, J. F.; GUERRIERO, G. *Cannabis sativa*: the plant of the thousand and one molecules. **Front Plant Sci.**, v. 7, 2016.
- ARAÚJO, M.; ALMEIDA, M. B.; ARAÚJO, L. L. N. Mecanismo de ação dos canabinoides: visão geral. **BrJP**, v. 6, n. 2, p. 109–113, 2023.
- ARONSON, J. K; FERNER, R. E. Joining the DoTS: new approach to classifying adverse drug reactions. **BMJ**, v. 327, n. 7425, p. 1222–1225, 2003.

ARROIO, A.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F. DA. Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura-atividade. **Quim Nova**, v. 33, n. 3, p. 694–699, 1 jan. 2010.

ATAKAN, Z. *Cannabis*, a complex plant: different compounds and different effects on individuals. **Ther Adv Psychopharmacol**, v. 2, n. 6, p. 241–254, 2012.

AVELAR, T. M.; TAKAHASHI, L. R.; JUNIOR, J. O. O. The molecular machinery required to process endocannabinoids lipid signaling and their respective receptors. **BrJP**, v. 6, p. 19–26, 2023.

AVIELLO, G. *et al.* Chemopreventive effect of the non-psychotropic phytocannabinoid cannabidiol on experimental colon cancer. **J Mol Med.**, v. 90, n. 8, p. 925–934, 10 jan. 2012.

BAGGELAAR, M. P; MACCARRONE, M.; VAN DER STELT, M. 2-arachidonoylglycerol: a signaling lipid with manifold actions in the brain. **Prog Lipid Res.**, v. 71, p. 1–17, 2018.

BARCHEL, D. *et al.* Oral cannabidiol use in children with autism spectrum disorder to treat related symptoms and co-morbidities. **Front Pharmacol.**, v. 9, 9 jan. 2019.

BARROS, A.; PERES, M. Proibição da maconha no Brasil e suas raízes históricas escravocratas. **Rev Perif.**, v. 3, n. 2, 2012.

BASYAL, P.; REGMI, P. Ethnobotany, taxonomy and phytochemistry of *Cannabis sativa*. **IJMBioS**, v. 5, n. 2, 2021.

BECKER, H. S. **Outsiders: estudos de sociologia do desvio**. 1. ed. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Ed., 2008 [orig. 1928].

BEDROCAN. **Cannabis Products**. 2014. Disponível em: <https://bedrocan.com/cannabis-products/>. Acesso em: 28 set. 2023.

BENIGNI, R.; BOSSA, C. Mechanisms of chemical carcinogenicity and mutagenicity: a review with implications for predictive toxicology. **Chem Rev.**, v. 111, n. 4, p. 2507–2536, 25 jan. 2011.

BEWLEY-TAYLOR, D., BLICKMAN, T., JELSMA, M. **The Rise and Decline of Cannabis Prohibition: The History of Cannabis in the UN Drug Control System and Options For Reform**. Transnational Institute. Amsterdam, p. 1-88. 2014. Disponível em: https://www.tni.org/files/download/rise_and_decline_web.pdf. Acesso em: 16 dez. 2024.

BIRCK, M. G.; CAMPOS, L. J.; MELO, E. B. DE. Estudo computacional de 1*H*-imidazol-2-il-pirimidina-4,6-diaminas para a identificação de potenciais precursores de novos agentes antimaláricos. **Quim Nova**, v. 39, n. 5, p. 567-574, 2016.

BLASCO-BENITO, S. *et al.* Appraising the “entourage effect”: Antitumor action of a pure cannabinoid versus a botanical drug preparation in preclinical models of breast cancer. **Biochem Pharmacol.**, v. 157, p. 285–293, 27 jun. 2018.

BONINI, S. A. *et al.* *Cannabis sativa*: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. **J Ethnopharmacol.**, v. 227, p. 300–315, 2018.

BORILLE, 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 Farmácia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

BRASIL. **Decreto-Lei nº 891, de 25 de dezembro de 1938**. Aprova a Lei de Fiscalização de Entorpecentes. Rio de Janeiro: Presidência da República, 25 nov. 1938.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 344, de 12 de maio de 1998. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 31 dez. 1998.

BRASIL. **Lei nº 11.343, de 23 de agosto de 2006**. Institui o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas - SISNAD; prescreve medidas para prevenção do uso indevido, atenção e reinserção social de usuários e dependentes de drogas; estabelece normas para repressão à produção não autorizada e ao tráfico ilícito de drogas; define crimes e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 23 ago. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 327, de 9 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os procedimentos para a concessão da Autorização Sanitária para a fabricação e a importação, bem como estabelece requisitos para a comercialização, prescrição, a dispensação, o monitoramento e a fiscalização de produtos de Cannabis para fins medicinais, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 9 dez. 2019.

DIÁRIO DA CÂMARA DOS DEPUTADOS. Brasília, DF: República Federativa do Brasil, ano 76, n. 106, 15 jun. 2021. Disponível em: <https://imagem.camara.gov.br/Imagem/d/pdf/DCD0020210615001060000.PDF#page%3D46>. Acesso em: 29 set. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 659, de 30 de março de 2022. Dispõe sobre o controle de importação e exportação de substâncias, plantas e medicamentos sujeitos a controle especial. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 30 mar. 2022a

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 660, de 30 de março de 2022. Define os critérios e os procedimentos para a importação de Produto derivado de Cannabis, por pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 62, p. 333, 30 mar. 2022b.

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (Anvisa). **Anvisa aprova novo produto de Cannabis a ser fabricado no Brasil**. 03 nov. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/anvisa-aprova-novo-produto-de-cannabis-a-ser-fabricado-no-Brasil>. Acesso em: 17 out. 2023.

BRASIL. Supremo Tribunal Federal. **STF define 40 gramas de maconha como critério para diferenciar usuário de traficante**. 26 jun. 2024a. Disponível em: <https://noticias.stf.jus.br/postsnoticias/stf-define-40-gramas-de-maconha-como-criterio-para-diferenciar-usuario-de-trafficante/>. Acesso em: 5 nov. 2024.

BRASIL. Resolução nº 940, de 14 de novembro de 2024. Dispõe sobre a aprovação da Farmacopeia Brasileira, 7ª edição. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 223, p. 110, 14 nov. 2024b.

BRASIL. Superior Tribunal de Justiça. **STJ valida cultivo medicinal da cannabis por empresas e dá prazo para regulamentação**. 14 nov. 2024c. Disponível em: <https://www.stj.jus.br/sites/portalp/Paginas/Comunicacao/Noticias/2024/14112024-STJ-valida-cultivo-medicinal-da-cannabis-por-empresas-e-da-prazo-para-regulamentacao.aspx>. Acesso em: 17 dez. 2024.

BRIDGEMAN, M. B.; ABAZIA, D. T. Medicinal cannabis: history, pharmacology, and implications for the acute care setting. **PT**, v. 42, n. 3, p. 180–188, 2017.

BRITO, M. A. DE. Avaliação de propriedades toxicológicas de fármacos *in silico* no curso experimental de química medicinal. **Rev eletrônica farm.**, Goiânia, v. 7, n. 4, p. 8, 2011. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/REF/article/view/10177>. Acesso em: 18 out. 2023.

CAMPOS, A. C. *et al.* Multiple mechanisms involved in the large-spectrum therapeutic potential of cannabidiol in psychiatric disorders. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.**, v. 367, n. 1607, p. 3364–3378, 20 out. 2012.

CARNEIRO, H. S. Proibição da Maconha: racismo e violência no Brasil. **Cah Am Lat.**, n. 92, p. 135–152, 2019. Disponível em: <https://journals.openedition.org/cal/10049>. Acesso em: 29 set. 2023.

CASCORBI, I. Clinical pharmacology of cannabinoid therapeutics: drug interactions and side effects. **Clin Pharmacol Ther.**, v. 114, n. 5, p. 943–946, 12 out. 2023.

CELESTINO, L. K.; MARCONATO, M. L.; LOPES, B. E, R. MACONHA NA SAÚDE: Uma revisão bibliográfica sobre uso terapêutico da *Cannabis sativa*. **SAJES**, v. 7, n. 13, 2021. Disponível em: <https://www.revista.ajes.edu.br/index.php/sajes/article/view/384>. Acesso em: 19 out. 2023.

CHANDRA, S. *et al.* *Cannabis sativa* L.: botany and horticulture. **Biol Biotech.**, p. 79–100, 2017. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-54564-6_3#citeas. Acesso em: 25 set. 2023.

CHARITOS, I. A. *et al.* The Cannabis spread throughout the continents and its therapeutic use in history. **Endocr Metab Immune Disord Drug Targets**, v. 21, n. 3, p. 407–417, 2021.

CLEWELL, A. *et al.* An evaluation of the genotoxicity and 90-day repeated-dose toxicity of a CBD-rich hemp oil. **J Appl Toxicol.**, v. 43, n. 11, p. 1719–1747, 28 jul. 2023.

COLES, M.; STEINER-LIM, G. Z.; KARL, T. Therapeutic properties of multi-cannabinoid treatment strategies for Alzheimer’s disease. **Front Neurosci.**, v. 16, 2022.

CORROON, J.; FELICE J. F. The endocannabinoid system and its modulation by cannabidiol (CBD). **Altern Ther Health Med.**, v. 25, n. S2, 2019.

CROCQ, M. A. History of cannabis and the endocannabinoid system. **Dialogues Clin Neurosci.**, v. 22, n. 3, p. 223–228, 2020.

D’ANIELLO, E. *et al.* Identification and characterization of phytocannabinoids as novel dual PPAR α/γ agonists by a computational and *in vitro* experimental approach. **Biochim Biophys Acta Gen Subj.**, v. 1863, n. 3, p. 586–597, mar. 2019.

DALL'AGNOL, L. B.; LOBO, P. T. Guerra às drogas: uma análise crítica sobre a retórica proibicionista, a ineficácia e o desastre social. **Rev Def Pública Estado Rio Gd Sul** n. 21, p. 375–404, 2018.

DAMIANI, R. M. *et al.* **Toxicologia**. Porto Alegre: SAGH, 2021. 240 p.

DI GIACOMO, V. *et al.* Antioxidant and neuroprotective effects induced by cannabidiol and cannabigerol in rat CTX-TNA2 astrocytes and isolated cortexes. **Int J Mol Sci.**, v. 21, n. 10, p. 3575–3575, 18 maio 2020.

DIAS, G. T. **Avaliação da toxicidade *in silico* e das atividades hemolítica, antioxidante e antibacteriana *in vitro* das formas óleo essencial e óleo essencial microencapsulado de *Lippia pedunculosa***. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Farmácia — Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 23 fev. 2018.

DIEHL, A.; PILLON, S. C. **Maconha: prevenção, tratamento e políticas públicas**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2020.

DINIZ, D. C. *et al.* Elucidar efeitos terapêuticos e regulatório do uso da *Cannabis sativa*. **Braz J Health Rev.**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 14, 2024.

DONATO, L. *et al.* Green Chemistry and Molecularly Imprinted Membranes. **Membr J.**, v. 12, n. 5, p. 472–472, 27 abr. 2022.

DRUGBANK. **Risperidone**. 2005. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00734>. Acesso em: 16 nov. 2024.

DUARTE, M. H. **Inovação do método MIA-QSAR: aplicação para doenças tropicais negligências**. 2016. Tese (Doutorado em Agroquímica, área de concentração em Química/Bioquímica) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2016.

DZIWENKA, M. *et al.* Safety Assessment of a Hemp Extract using Genotoxicity and Oral Repeat-Dose Toxicity Studies in Sprague-Dawley Rats. **Toxicol Rep.**, v. 7, p. 376–385, 1 jan. 2020.

DZIWENKA, M. *et al.* Toxicological safety assessment of HempChoice® hemp oil extract; a proprietary extract consisting of a high concentration of cannabidiol (CBD) in addition to other phytocannabinoids and terpenes derived from *Cannabis sativa* L. **Heliyon**, v. 9, n. 6, p. e16913–e16913, 1 jun. 2023.

EGERTOVÁ, M. *et al.* A new perspective on cannabinoid signalling: complimentary localization of fatty acid amide hydrolase and the CB1 receptor in rat brain. **Proc Biol Sci.**, v. 265, n. 1410, p. 2081–2085, 1998.

ELSOHLY, M. A. *et al.* Phytochemistry of *Cannabis sativa* L. **Prog Chem Org Nat Prod.**, p. 1–36, 2017.

ESCRITÓRIO DAS NAÇÕES UNIDAS SOBRE DROGAS E CRIME (UNODC). **Convention On Psychotropic Substances**. 1971. Disponível em: https://www.unodc.org/pdf/convention_1971_en.pdf. Acesso em: 16 out. 2023.

EUROPEAN CHEMICALS AGENCY (ECHA). **Guia prático: como utilizar métodos alternativos aos ensaios em animais com vista ao cumprimento dos requisitos de informação para fins do registo REACH.** 2016. Disponível em: https://echa.europa.eu/documents/10162/17250/practical_guide_how_to_use_alternatives_pt.pdf/d262012a-a3b1-48e2-a2e5-f9a351a074ed. Acesso em: 29 ago. 2023.

EUROPEAN CHEMICALS AGENCY (ECHA). **How to use alternatives to animal testing to fulfil your information requirements for REACH registration.** 2016. Disponível em: https://echa.europa.eu/documents/10162/17250/practical_guide_how_to_use_alternatives_en.pdf/148b30c7-c186-463c-a898-522a888a4404?t=1473948556256. Acesso em: 29 ago. 2023.

EUROPEAN CHEMICALS AGENCY (ECHA). **Read-across Assessment Framework (RAAF).** 2017. Disponível em: https://echa.europa.eu/documents/10162/13628/raaf_en.pdf/614e5d61-891d-4154-8a47-87efebd1851a. Acesso em: 25 ago. 2023.

FAOUZI, M. *et al.* Acidic cannabinoids suppress proinflammatory cytokine release by blocking store-operated calcium entry. **Function**, v. 3, n. 4, 1 jan. 2022.

FASAKIN, O W; OBOH, G.; ADEMOSUN, A. O. Alkaloids-rich extracts from *Cannabis sativa*, *Datura stramonium*, and *Nicotiana tabacum* modulate sexual behavior and key enzymes relevant to sexual function in rats. **Comp Clin Pathol.**, v. 31, p. 397-407, 2022.

FERBER, S. G. *et al.* The “entourage effect”: terpenes coupled with cannabinoids for the treatment of mood disorders and anxiety disorders. **Curr Neuropsychopharmacol.**, v. 18, n. 2, p. 87–96, 2020.

FLORES, L. E.; ZAMIN, L. L. Potencial neuroprotetor, antioxidante e anti-inflamatório do canabidiol: relevância e perspectivas para o tratamento de doenças neurodegenerativa. **Rev Cienc Med Biol.**, v. 16, n. 2, p. 224–229, 2017.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). CFR - **Code of Federal Regulations Title 21.** 1974. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=1308>. Acesso em: 28 set. 2023.

FRANCO, V.; PERUCCA, E. Pharmacological and therapeutic properties of cannabidiol for epilepsy. **Drugs**, v. 79, n. 13, p. 1435–1454, 2019.

FREITAS, V. A. M. D. **Estudos SAR e QSAR-2D de derivados de N-benzoil-2-hidroxibenzamidas ativos contra *Plasmodium falciparum*.** 2017. Dissertação (Mestrado em Físico-química) – Faculdade de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

GAD, S. C. QSAR. In: WEXLER, P. **Encyclopedia of Toxicology.** 3. ed. [s.l]: Academic Press, 2014. v. 4, p. 1-9.

GAO, Q. *et al.* Identification of dual PPAR α / γ agonists and their effects on lipid metabolism. **Bioorg Med Chem.**, v. 23, n. 24, p. 7676–7684, 14 nov. 2015.

GAO, S. *et al.* Recent advances in the molecular mechanism of thalidomide teratogenicity. **Biomed Pharmacother.**, v. 127, p. 110114, 2020.

GLÓRIA, E. C. *et al.* Biological properties and therapeutic applications of cannabidiol. **J Med Plant Res.**, Brasil, v. 14, n. 6, p. 283-291, 2020.

GOZALBES, R.; JULIÁN-ORTIZ, J. V. Applications of chemoinformatics in predictive toxicology for regulatory purposes, especially in the context of the EU REACH legislation. **IJQSPR**, v. 3, n. 1, p. 1–24, 2018.

GREIM, H.; SNYDER, R. **Toxicology and risk assessment: a comprehensive introduction**. 2. ed. Canada: John Wiley & Sons Ltd, 2019.

HANUŠ, L. *et al.* Phytocannabinoids: a unified critical inventory. **Nat Prod Rep.**, v. 33, n. 12, p. 1357–1392, 2016.

HASBI, A.; MADRAS, B. K; GEORGE, S. R. Endocannabinoid system and exogenous cannabinoids in depression and anxiety: a review. **Brain Sci.**, v. 13, n. 2, p. 325–325, 2023.

HENDERSON, R. G. *et al.* Genotoxicity evaluation of cannabidiol. **Regul Toxicol Pharmacol.**, v. 142, p. 105425–105425, 3 jun. 2023.

HERMUSH, V. *et al.* Effects of rich cannabidiol oil on behavioral disturbances in patients with dementia: A placebo controlled randomized clinical trial. **Front Med (Lausanne)**, v. 9, 6 set. 2022.

HILL, K. P.; PALASTRO, M. D. Medical cannabis for the treatment of chronic pain and other disorders: misconceptions and facts. **Pol Arch Intern Med.**, 2017.

HUDAK, J. **The Farm Bill, hemp legalization and the status of CBD: An explainer**. 14 dez. 2018. Disponível em: <https://www.brookings.edu/articles/the-farm-bill-hemp-and-cbd-explainer/>. Acesso em: 7 nov. 2024.

HUTCHINGS, D. E.; BRAKE, S. C.; MORGAN, B. Animal studies of prenatal delta-9-tetrahydrocannabinol: female embryoletality and effects on somatic and brain growth. **Ann N Y Acad Sci.**, v. 562, n. 1, p. 133–144, 1 jun. 1989.

JESUS, A. C. J. DE *et al.* Legalização da maconha para fins medicinais. **Rev Curso Dir Cent Univ Brazcubas**, v. 1, n. 1, 2017.

KALGUTKAR, A. S. Designing around structural alerts in drug discovery. **J Med Chem.**, v. 63, n. 12, p. 6276–6302, 2019.

KAM, R. K. T. *et al.* Retinoic acid synthesis and functions in early embryonic development. **Cell biosci.**, v. 2, n. 1, mar. 2012.

KIM, Y. C.; MATTHEWS, H.B. Comparative metabolism and excretion of resorcinol in male and female F344 rats. **Fundam Appl Toxicol.**, v. 9, n. 3, p. 409–414, out. 1987.

KLAASSEN, C. D. *et al.* **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull**. 2. ed. Porto Alegre: AMGH Editora LTDA, 2012.

KOHATSU, A. G. DA S.; SHIMABUKURO, F. Utilização dos testes de mutagenicidade para a avaliação de exposição ocupacional. **Rev Saúde Ética Just.**, v. 12, n. 1-2, p. 15–15, 2007.

KOHNZ, R. A; NOMURA, D. K. Chemical approaches to therapeutically target the metabolism and signaling of the endocannabinoid 2-AG and eicosanoids. **HHS**, v. 43, n. 19, p. 6859–6869, 2014.

KOLAR, N.; BANKOGLU, E. E.; STOPPER, H. Genotoxicity of selected cannabinoids in human lymphoblastoid TK6 cells. **Arch Toxicol.**, v. 98, n. 10, p. 3439–3451, 22 ago. 2024.

KOLLIPARA, R. *et al.* Phytocannabinoids Reduce Seizures in Larval Zebrafish and Affect Endocannabinoid Gene Expression. **Biomol.**, v. 13, n. 9, p. 1398, 16 set. 2023.

KOPUSTINSKIENE, D. M. *et al.* *Cannabis sativa* L. bioactive compounds and their protective role in oxidative stress and inflammation. **Antioxidants**, v. 11, n. 4, p. 660–660, 29 mar. 2022.

KOVARICH, S.; CAPPELLI, C. I. Use of *in silico* methods for regulatory toxicological assessment of pharmaceutical impurities. **Methods Mol Biol.**, p. 537–560, 2022.

KOWAL, M. A; HAZEKAMP, A.; GROTENHERMEN, F. Review on clinical studies with cannabis and cannabinoids 2010-2014. **Mult Scler.**, v.6, n.8, p. 1515, 2016.

LAPIERRE, É.; MONTHONY, A. S; TORKAMANEH, D. Genomics-based taxonomy to clarify cannabis classification. **Genome**, v. 66, n. 8, p. 202–211, 2023.

LASCHKE, M. W; GU, Y.; MENDER, M. D. Replacement in angiogenesis research: studying mechanisms of blood vessel development by animal-free *in vitro*, *in vivo* and *in silico* approaches. **Front Physiol.**, v. 13, 2022.

LAVANDEIRA, F. M. F. **Ensaios toxicológicos pré-clínicos na avaliação da segurança de novos fármacos**, 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Portugal, 2014.

LEANDRO, J. A.; SANTOS, F. L. História da talidomida no Brasil a partir da mídia impressa (1959-1962). **Saúde e Soc.**, v. 24, n. 3, p. 991–1005, set. 2015.

LIMBAN, C. *et al.* The use of structural alerts to avoid the toxicity of pharmaceuticals. **Toxicol Rep.** v. 5, p. 943–953, 2018.

LIU, Z. *et al.* Toxicogenomics: A 2020 Vision. **Trends Pharmacol Sci.**, v. 40, n. 2, p. 92–103, 26 dez. 2018.

LIVERTOX. **Clinical and research information on drug-induced liver injury**. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2012. Atualizado em 16 fev. 2023.

LOWE, H. J. *et al.* The Endocannabinoid System: A Potential Target for the Treatment of Various Diseases. **Int J Mol Sci.**, v. 22, n. 17, p. 9472–9472, 2021.

MADDEN, J. C. *et al.* A review of *in silico* tools as alternatives to animal testing: principles, resources and applications. **Sage**, v. 48, n. 4, p. 146-172, 2020.

MAIONE, S. *et al.* Non-psychoactive cannabinoids modulate the descending pathway of antinociception in anaesthetized rats through several mechanisms of action. **Br J Pharmacol.**, v. 162, n. 3, p. 584–596, 13 out. 2011.

MARINHO, A. M. DA N.; SILVA-NETO, R. W. G. DA. Efeitos anti-inflamatórios dos canabinoides. **BrJP**, v. 6, Suppl 1, pp. 31-37. 2023.

MARTINS, D.; VALENTE, H.; PIRES, C. V. **A guerra contra as drogas é uma guerra contra as pessoas. Mas que pessoas?** 2019. Disponível em: <https://www.publico.pt/2019/06/26/p3/cronica/guerra-drogas-guerra-pessoas-pessoas-1877713>. Acesso em: 22 dez. 2024.

MELAS, P. A. *et al.* Cannabidiol as a potential treatment for anxiety and mood disorders: molecular targets and epigenetic insights from preclinical research. **Int J Mol Sci.**, v. 22, n. 4, p. 1863–1863, 13 fev. 2021.

MITARLIS, M.; AZIZAH, U.; YONATA, B. A integração dos princípios da química verde na aprendizagem básica de química para apoiar a realização dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) por meio da educação. **J Sci Educ.**, [S.l.], v. 13, n. 1, p. 233-254, jan. 2023. Disponível em: <https://www.jotse.org/index.php/jotse/article/view/1892>. Acesso em: 12 jul. 2024.

MOREIRA, F. A.; AGUIAR, D. C; GUIMARÃES, F. S. Anxiolytic-like effect of cannabinoids injected into the rat dorsolateral periaqueductal gray. **Neuropharmacology**, v. 52, n. 3, p. 958–965, 2007.

MOREIRA, F. A.; CRIPPA, J. A. S. The psychiatric side-effects of rimonabant. **Brazilian Psychiatry J.**, v. 31, n. 2, p. 145–153, 1 jun. 2009.

MOREIRA, F. A.; LUTZ, B. The endocannabinoid system: emotion, learning and addiction. **Addict Biol.**, v. 13, n. 2, p. 196–212, 16 abr. 2008.

MORO, A.; INVERNIZZI, N. A tragédia da talidomida: a luta pelos direitos das vítimas e por melhor regulação de medicamentos. **Hist cienc saúde-Manguinhos**, v. 24, n. 3, p. 603–622, 2017.

MOUDGAL, C.; *et al.* The application of acute oral toxicity computational models in dangerous goods classification. **Toxicol Ind Health**, v. 39, n. 12, p. 687–699, 2023.

MOURA, N. *et al.* Ensaios toxicológicos: um estudo sobre a utilização de testes *in vivo* e *in vitro*. **Encicl Biosf.**, v. 8, n. 15, 2012.

MUNIZ, C. R. D. O.; MORAES, I. A. D.; ARAÚJO, S. V. N. D. **Guia de doses máximas e mínimas de medicamentos do HU-UNIVASF**. 1. ed. Petrolina: 2018. Disponível em: <http://www.univasf.edu.br/~tcc/00000f/00000f31.pdf>. Acesso em: 21 dez. 2024.

NAÇÕES UNIDAS NO BRASIL. **Objetivo de Desenvolvimento Sustentável - Saúde e Bem-Estar**. [S. l.], 2024. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs/12>. Acesso em: 12 jul. 2024.

NALLATHAMBI, R. *et al.* Identification of synergistic interaction between cannabis-derived compounds for cytotoxic activity in colorectal cancer cell lines and colon polyps that induces apoptosis-related cell death and distinct gene expression. **Cannabis Cannabinoid Res.**, v. 3, n. 1, p. 120–135, 1 jun. 2018.

NASCIMENTO, I. C. D. **Tricomas secretores em espécies de Cannabaceae e Ulmaceae**. 2017. Dissertação (Mestre em Biologia Comparada) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

NDUMA, B. N. *et al.* The Use of Cannabinoids in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease (IBD): A Review of the Literature. **Cureus**, v. 15, n.3, 14 mar. 2023.

NGUYEN, L. C. *et al.* Cannabidiol inhibits SARS-CoV-2 replication through induction of the host ER stress and innate immune responses. **Sci Adv.**, v. 8, n. 8, 2022.

OLÁH, A. *et al.* Differential effectiveness of selected non-psychotropic phytocannabinoids on human sebocyte functions implicates their introduction in dry/seborrhoeic skin and acne treatment. **Exp Dermatol.**, v. 25, n. 9, p. 701–707, 20 abr. 2016.

OLIVEIRA, K. C. *et al.* Impacto da administração crônica de canabidiol em ratos. **CLCS**, v. 16, n. 9, p. 15350–15372, 2023.

OLSON, K. R. **Manual de toxicologia clínica**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

ONOFRI, C.; MEIJER, E. P. M. D.; MANDOLINO, G. Sequence heterogeneity of cannabidiolic- and tetrahydrocannabinolic acid-synthase in *Cannabis sativa* L. and its relationship with chemical phenotype. **Antioxidants (Basel)**, v. 116, p. 57–68, 11 abr. 2015.

ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Customisation Opportunities of IUCLID for the Management of Chemical Data**. Paris, v. 2, n. 297, 2021. Disponível em: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/customisation-opportunities-of-iuclid-for-the-management-of-chemical-data-2nd-edition-e1199efc-en.htm>. Acesso em: 4 set. 2023.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Guidance Document on the Validation of (Quantitative) Structure-Activity Relationship [(Q)SAR] Models**. Paris, 2014. Disponível em: <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264085442-en.pdf?expires=1693676134&id=id&accname=guest&checksum=964ED5E27A48497D6BE172028363C489>. Acesso em: 2 set. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review**. 5 jun. 1998. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-TRM-98.1>. Acesso em: 18 out. 2023.

OSMAN, N. A. Statistical methods for *in silico* tools used for risk assessment and toxicology. **Phys Sci Rev.**, v. 8, n. 9, p. 2711–2724, 7 jan. 2022.

PALLADINI, M. C. Indications for the use of cannabinoids. **BrJP**, v. 6, n. 2, p. 142-145, 2023.

PAMPLONA, F. A. Quais são e pra que servem os medicamentos à base de Cannabis? **Rev Biol.**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 28-35, 2014.

PAMPLONA, F. A.; SILVA, L. R. D.; COAN, A. C. Potential clinical benefits of CBD-rich cannabis extracts over purified CBD in treatment-resistant epilepsy: observational data meta-analysis. **Front Neurol.**, v. 9, 12 set. 2018.

PATLEWICZ, G. *et al.* Read-across approaches - misconceptions, promises and challenges ahead. **ALTEX**, v. 31, n. 4, p. 387–396, 2014.

PATLEWICZ, G. *et al.* Use of category approaches, *read-across* and (Q)SAR: General considerations. **Regul Toxicol Pharmacol.**, v. 67, n. 1, p. 1–12, 2013.

PEREIRA, J.G. Reações adversas a medicamentos. **Fármaco**, v. 2, n. 4, p. 6-7, 2002.

PEREZ, E. *et al.* *In vitro* and clinical evaluation of cannabigerol (CBG) produced via yeast biosynthesis: a cannabinoid with a broad range of anti-inflammatory and skin health-boosting properties. **Mol.**, v. 27, n. 2, p. 491, 13 jan. 2022.

PERUQUETTI, P. H. **Estudo QSAR aplicado a pesticidas benzimidazólicos para a análise de risco ambiental**. 2020. Dissertação (Mestrado em Química) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

PHILLIPS, R. N.; TURK, R. F.; FORNEY, R. B. Acute toxicity of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in rats and mice. **Exp Biol Med**, v. 136, n. 1, p. 260–263, 1 jan. 1971.

POTTER, 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, n. 1-2, p. 31–38, 2013.

RAIES, A. B.; BAJIC, V. B. *In silico* toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. **Wiley Interdiscip Rev Comput Mol Sci.**, v. 6, n. 2, p. 147–172, 2016.

RAJPOOT, K. *et al.* *In silico* methods for the prediction of drug toxicity. In: TEKADE, R. K. **Pharmacokinetics and Toxicokinetic Considerations**. 1. ed. [s.l]: Academic Press, 2022. v. 2, cap. 14, p. 357-383

RASTELY, N. B. C. **Estudo da estabilidade dos fitocanabinoides em extratos medicinais de *Cannabis sativa* L., em diferentes condições de armazenamento**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso em Graduação em Biotecnologia - Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, Foz do Iguaçu, 2023

RIETJENS, I. M. C. M. *et al.* Flavonoids and alkenylbenzenes: mechanisms of mutagenic action and carcinogenic risk. **Mutat Res.**, v. 574, n. 1-2, p. 124–138, 4 abr. 2005.

RITTER, J. M. *et al.* **Rang & Dale: farmacologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan Ltda, 2020.

RUSSO, C. *et al.* Low doses of widely consumed cannabinoids (cannabidiol and cannabidivarin) cause DNA damage and chromosomal aberrations in human-derived cells. **Arch Toxicol.**, v. 93, n. 1, p. 179–188, 19 out. 2019.

RUSSO, E. B. Current therapeutic cannabis controversies and clinical trial design issues. **Front Pharmacol.**, v. 7, 2016. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2016.00309/full>. Acesso em: 20 set. 2023.

RUSSO, E. B. *et al.* Phytochemical and genetic analyses of ancient cannabis from Central Asia. **J Exp Bot.**, v. 59, n. 15, p. 4171–4182, 1 nov. 2008.

SAAD, L. “**Fumo de negro**”: a criminalização da maconha no pós-abolição. 1. ed. Salvador: EDUFBA, 2019.

SAITO, V. M; WOTJAK, C. T; MOREIRA, F. A. Exploração farmacológica do sistema endocanabinoide: novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão. **Braz J Psychiatry.**, v. 32, n. 1, p. 57–514, 2010.

SANTOS, C. E. M. Toxicologia *in silico*: uma nova abordagem para análise do risco químico. **Rev Inter.**, v. 4, n. 1, p. 47-63, fev. 2011.

SANTOS, F. V. D. **Avaliação da mutagenicidade *in vivo* e *in vitro* de compostos obtidos de plantas nativas do cerrado**. 2006. Tese (Doutorado em Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

SARMA, N. D. *et al.* Cannabis inflorescence for medical purposes: USP considerations for quality attributes. **J Nat Prod.**, v. 83, n. 4, p. 1334–1351, 2020.

SATIVEX: Spray bucal. Cambridge: GW Pharma Ltd, 2022. 1 bula de remédio. Disponível em: <https://www.medicines.org.uk/emc/product/602/smpc#gref>. Acesso em: 29 set. 2023.

SCHERMA, M. *et al.* Brain activity of anandamide: a rewarding bliss? **Acta Pharmacol Sin.**, v. 40, n. 3, p. 309–323, 2019.

SCHULTZ, T.W. *et al.* A strategy for structuring and reporting a *read-across* prediction of toxicity. **Regul Toxicol Pharmacol.**, v. 72, n. 3, p. 586–601, 2015.

SCOTT, K. A. *et al.* Enhancing the activity of cannabidiol and other cannabinoids *in vitro* through modifications to drug combinations and treatment schedules. **Anticancer Res.**, v. 33, n. 10, 2013.

SEGALL, M. D.; BARBER, C. Addressing toxicity risk when designing and selecting compounds in early drug discovery. **Drug Discov Today**, v. 19, n. 5, p. 688–693, 2014.

SELL, S. C. A etiqueta do crime: considerações sobre o "labelling approach". **Rev Jus Navig.**, Teresina, ano 12, n. 1507, 17 ago. 2007. Disponível em: <https://jus.com.br/artigos/10290>. Acesso em: 23 out. 2023.

SHINJYO, N.; DI MARZO, V. The effect of cannabichromene on adult neural stem/progenitor cells. **Neurochem Int.**, v. 63, n. 5, p. 432–437, 11 ago. 2013.

SILVA, J. K. N. O controle de substâncias ilegais: os tratados internacionais antidrogas e as repercussões sobre a legislação brasileira. **Rev Eletron Cienc Sociais**, n. 20, 2015. Disponível em: <https://periodicos.ufjf.br/index.php/csonline/article/view/17400>. Acesso em: 16 out. 2023.

SILVA, N. C. S. Tudo que é natural não faz mal? Investigação sobre o uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos por idosos, na cidade de Iapu-Leste De Minas Gerais. **Rev Cad Academ.**, v. 2, n. 1, 2016.

SIM-SELLEY, L. J. Regulation of cannabinoid CB1 receptors in the central nervous system by chronic cannabinoids. **Crit Rev Neurobiol.**, v. 15, n. 2, p. 91–119, 1 jan. 2003.

SMALL, E. Evolution and Classification of *Cannabis sativa* (Marijuana, Hemp) in Relation to Human Utilization. **Bot Ver.**, v. 81, n. 3, p. 189–294, 2015.

SMITH, R. L. *et al.* Safety assessment of allylalkoxybenzene derivatives used as flavouring substances — methyl eugenol and estragole. **Food Chem Toxicol.**, v. 40, n. 7, p. 851–870, 1 jul. 2002.

SNYDER, R. D. *et al.* The influence of N-dialkyl and other cationic substituents on DNA intercalation and genotoxicity. **Mutat Res.**, v. 578, n. 1-2, p. 88–99, 29 jun. 2005.

SNYDER, R. D.; EWING, D.; HENDRY, L. B. DNA intercalative potential of marketed drugs testing positive in *in vitro* cytogenetics assays. **Mutat Res.**, v. 609, n. 1, p. 47–59, out. 2006.

SOUZA, M. R. D. **Desenvolvimento de proposta de monografia farmacopeica de inflorescências de *Cannabis sativa* L.** 2022. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2022.

SRIDHARAN, D. M. *et al.* Understanding cancer development processes after hze-particle exposure: roles of ROS, DNA damage repair and inflammation. **Radiat Res.**, v. 183, n. 1, p. 1–26, jan. 2015.

SUI, X. *et al.* Phenolic compounds induce ferroptosis-like death by promoting hydroxyl radical generation in the Fenton reaction. **Commun Biol**, v. 7, n. 1, 17 fev. 2024.

TAHIR, M. N. *et al.* The biosynthesis of the cannabinoids. **J Cannabis Res.**, v. 3, n. 1, 15 mar. 2021.

TAURA, F. *et al.* Cannabidiolic-acid synthase, the chemotype-determining enzyme in the fiber-type *Cannabis sativa*. **FEBS Lett.**, v. 581, n. 16, p. 2929–2934, 25 maio 2007.

TNI - TRANSNATIONAL INSTITUTE. **About drug law reform in Brazil.** [S. l.], 2015. Disponível em: <https://www.tni.org/en/publication/about-drug-law-reform-in-brazil>. Acesso em: 4 out. 2024.

VIEGAS JÚNIOR, C.; FRANCO, G. D. R. R. A contribuição de estudos do canabidiol e análogos sintéticos no desenho de novos candidatos a fármacos contra transtornos neuropsiquiátricos e doenças neurodegenerativas. **Rev Virtual Quím.**, v. 9, n. 4, 2017.

VILLA, R.; PERASSOLO, M. S.; SUYENAGA, E. S. Rimonabanto: um fármaco antiobesidade? **Rev Conhecimento Online**, [S. l.], v. 1, p. 119–131, 2015. Disponível em: <https://periodicos.feevale.br/seer/index.php/revistaconhecimentoonline/article/view/93>. Acesso em: 6 out. 2024.

VOLKOW, N. D. *et al.* Adverse health effects of marijuana use. **N Engl J Med.**, v. 370, n. 23, p. 2219–2227, 2014.

WANG, M. W. H.; GOODMAN, J. M.; ALLEN, T. E. H. Machine learning in predictive toxicology: recent applications and future directions for classification models. **Chem Res Toxicol.**, v. 34, n. 2, p. 217–239, 2020.

WANG, T. *et al.* Adverse effects of medical cannabinoids: a systematic review. **CMAJ**, v. 178, n. 13, p. 1669–1678, 16 jun. 2008.

WATT, G.; KARL, T. *In vivo* evidence for therapeutic properties of cannabidiol (CBD) for alzheimer's disease. **Front Pharmacol.**, v. 8, 2017.

WINSTONE, J. *et al.* Effects of tetrahydrocannabinol and cannabidiol on brain-derived neurotrophic factor and tropomyosin receptor kinase B expression in the adolescent hippocampus. **Cannabis Cannabinoid Res.**, v. 8, n. 4, p. 612–622, 31 maio 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The importance of pharmacovigilance:** safety monitoring of medicinal products. Geneva: WHO, 2002. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/10665-42493>. Acesso em: 1 ago. 2023.

YANG, H.; SUN, L.; LI, W.; *et al.* *In silico* prediction of chemical toxicity for drug design using machine learning methods and structural alerts. **Front Chem.**, v. 6, 2018.

YIN, A.; WANG, F.; ZHANG, X. Integrating endocannabinoid signaling in the regulation of anxiety and depression. **Acta Pharmacol Sin.**, v. 40, n. 3, p. 336–341, 2018.

ZAHARIA, L. S. *et al.* Influence of temperature and heating time on the decarboxylation of Δ^9 -THCA and CBDA in the cannabis inflorescences. **UPB Sci Bull.**, Series B, v. 82, n. 3, 2020.

ZHANG, L. *et al.* Applications of machine learning methods in drug toxicity prediction. **Curr Top Med Chem.**, v. 18, n. 12, p. 987–997, 27 jul. 2018.

ZHOU, X. *et al.* Changes in browning degree and reducibility of polyphenols during autoxidation and enzymatic oxidation. **Antioxidants**, v. 10, n. 11, p. 1809–1809, 15 nov. 2021.

ŽIGIĆ, N. *et al.* Possible consequences of cannabis legalization - what do research show? **Psychiatr Danub.**, v. 33, n. 4, 2021.

ZOU, S.; KUMAR, U. Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: signaling and function in the central nervous system. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 3, p. 833–833, 2018.

ZUARDI, A. W. History of cannabis as a medicine: a review. **Braz J Psychiatry**, v. 28, n. 2, p. 153–157, jun. 2006.