



**UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
PÂMELA APARECIDA DA COSTA**

**QUANTIFICAÇÃO QUÍMICA DE CBD E THC E ANÁLISE BACTERIOLÓGICA
DE EXTRATOS ARTESANAIS DE *CANNABIS Sativa*: A IMPORTÂNCIA DA
REGULAMENTAÇÃO**

Palhoça
2022

PÂMELA APARECIDA DA COSTA

**QUANTIFICAÇÃO QUÍMICA DE CBD E THC E ANÁLISE
BACTERIOLÓGICA DE EXTRATOS ARTESANAIS DE *CANNABIS Sativa*: A
IMPORTÂNCIA DA REGULAMENTAÇÃO**

LINHA DE PESQUISA: NEUROCIÊNCIAS

Dissertação de Mestrado
apresentado ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências da
Saúde como requisito parcial
para a obtenção do título de
Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof., Dr. Rafael Mariano de Bitencourt

Palhoça

2022

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - MESTRADO

**ATA Nº 18/2022 DE DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO
DEFESA DISSERTAÇÃO Nº 211**

Mestranda: Pâmela Aparecida da Costa

Aos trinta e um dias do mês de outubro de dois mil e vinte e dois, às treze horas e trinta minutos, por videoconferência, através do aplicativo Zoom, reuniu-se a Comissão Avaliadora de Defesa de Dissertação, regida pela Resolução PPGCS Nº 30/2022, composta pelos seguintes avaliadores: Rafael Mariano de Bitencourt (Orientador), Flávia Karine Rigo (Avaliador Externo - UNESCO), e Josiane Somariva Prophiro (Avaliador Interno - PPGCS), conforme capítulo XI do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para, sob a presidência do primeiro, arguírem a mestranda Pâmela Aparecida da Costa, na defesa de sua Dissertação intitulada *Quantificação química de CBD e THC e análise bacteriológica de extratos artesanais de CANNABIS SP: A importância da regulamentação*. Área de concentração "Ciências da Saúde" e linha de pesquisa "Neurociências". Após a apresentação, a mestranda foi arguida pela Comissão Avaliadora. Feitos os questionamentos e ouvidas as explicações, a Comissão Avaliadora emitiu os seguintes pareceres:

Dr. Rafael Mariano de Bitencourt - Aprovada

Dra. Flávia Karine Rigo - *Presente por videoconferência - ver anexo,*

Dra. Josiane Somariva Prophiro - *Presente por videoconferência - ver anexo.*

Observações: Seguir as recomendações da banca avaliadora para elaboração do documento final

Assim, o parecer final, nos termos do Regimento do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, é: _____

Nada mais havendo a tratar, foram encerrados os trabalhos e, após lida, foi a presente ata assinada pela Mestranda e pelos membros da Comissão Avaliadora.

Dr. Rafael Mariano de Bitencourt - _____ 

Dra. Josiane Somariva Prophiro - *Presente por videoconferência - ver anexo,*

Dra. Flávia Karine Rigo - *Presente por videoconferência - ver anexo,*

Pâmela Aparecida da Costa _____



C87 Costa, Pâmela Aparecida da, 1991-
Quantificação química de CBD e THC e análise bacteriológica de
extratos artesanais de cannabis sativa : a importância da
regulamentação / Rafael Mariano de Bitencourt. – 2022.
92 f. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Sul de Santa Catarina,
Pós-graduação em Ciências da Saúde.

Orientação: Profa. Dra. Betine Pinto Moehlecke Iser

1. Canabidiol. 2. Cannabis sativa. 3. Canabinoides. 4. HPLC. 5.
THC. I. Bitencourt, Rafael Mariano de. II. Universidade do Sul de
Santa Catarina. III. Título.

CDD (21. ed.) 615.7827

AGRADECIMENTOS

Um trabalho de mestrado é uma longa viagem, que inclui uma trajetória permeada por inúmeros desafios, tristezas, incertezas, alegrias e muitos percalços pelo caminho, mas apesar do processo solitário a que qualquer investigador está destinado, reúne contributos de várias pessoas, indispensáveis para encontrar o melhor rumo em cada momento da caminhada.

Trilhar este caminho só foi possível com o apoio, energia e força de várias pessoas, a quem dedico especialmente este projeto de vida. Especialmente ao meu orientador, Professor Doutor Rafael Mariano de Bitencourt, que sempre acreditou em mim, agradeço a orientação exemplar pautada por um elevado e rigoroso nível científico, um interesse permanente e fecundo, uma visão crítica e oportuna, um empenho inexcedível e saudavelmente exigente, os quais contribuíram para enriquecer, com grande dedicação, passo por passo, todas as etapas subjacentes ao trabalho realizado.

A Deus, pela dádiva da vida e por me permitir realizar tantos sonhos nesta existência. Obrigado por me permitir errar, aprender e crescer, por Sua eterna compreensão e tolerância, por Seu infinito amor, pela Sua voz “invisível” que não me permitiu desistir.

Aos meus colegas, Linério Ribeiro de Novais Júnior e Larissa Mendes da Silva que muitas vezes me ajudaram neste árduo percurso acadêmico, e que compartilharam importantes conhecimentos comigo. Obrigada pela atenção e por serem tão solícitos.

Em especial, a Mestra Rahisa Scussel, agradeço o apoio e motivação incondicional que ajudou a tornar este trabalho uma válida e agradável experiência de aprendizagem. Estou grata pela construção de nossa amizade. Obrigada pelos ensinamentos de tantos dias de dosagens realizadas no laboratório da UNESC – Criciúma (MULTILAB), que tenho enorme carinho.

A meus colegas de trabalho do Hospital de Guarnição de Florianópolis – HGuFI, pelos conselhos preciosos, pela elevada competência, total disponibilidade e encorajamento naqueles momentos cruciais desta difícil jornada, bem como pela leitura crítica e atenta das versões preliminares da

dissertação, contribuindo para o seu aperfeiçoamento, estou também especialmente grata.

Aos membros da banca examinadora, Prof.^a Josiane Somariva Prophiro e Profa. Flávia Karine Rigo, que tão gentilmente aceitaram participar e colaborar com esta dissertação. À Prof.^a Josiane Somariva Prophiro, agradeço ainda pelas conversas breves, porém importantíssimas.

Agradeço também o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições Comunitárias de Ensino Superior (PROSUC/CAPES).

O meu profundo e sentido agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

*“Ninguém é culpado por estar doente,
mas tem culpa por não buscar a cura.”*

Wilhelm Reich

RESUMO

Introdução: A *Cannabis sativa* é uma espécie vegetal utilizada há milênios, especialmente na forma medicinal, devido ao seu grande potencial terapêutico. O tetraidrocanabinol (THC) e o canabidiol (CBD) são as principais substâncias farmacologicamente ativas encontradas na planta. Métodos eficientes de extração, purificação e, por vezes, a separação desses canabinoides são necessários para a obtenção de extratos e compostos que possam ser utilizados na busca de respostas terapêuticas seguras e eficazes, além de analisar o perfil bacteriológico para atestar a segurança microbiológica do produto.

Métodos: Neste trabalho foi possível realizar a análise da composição de canabinoides em 41 extratos de *Cannabis sativa*. (32 produzidos por associações e 9 produzidos pelos próprios pacientes), determinando a quantidade de THC e CBD nas amostras, através da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/HPLC), bem como a presença de bactérias, pelo método Gram.

Resultados: As medianas das concentrações de THC e CBD dosados nas amostras foram de 51% e 58%, menores em relação à concentração esperada, respectivamente. Ademais, observou-se a presença de microrganismo Gram positivo em apenas uma amostra, sugestivo de *Staphylococcus Aureus*.

Conclusão: Embora as associações apresentem uma nobre função social, é importante o controle de qualidade na produção dos medicamentos, com a devida titulação de canabinoides e a análise microbiológica das amostras, o que pode ser efetivado através da regulamentação, por parte do Poder Público.

Palavras-chave: Canabidiol; *Cannabis sativa*; Canabinoides; HPLC; THC.

ABSTRACT

Introduction: Cannabis sativa is a plant species used for millennia, especially in the medicinal form, due to its great therapeutic potential. Tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD) are the main pharmacologically active substances found in the plant. Efficient methods of extraction, purification and, sometimes, the separation of these cannabinoids are necessary to obtain extracts and compounds that can be used in the search for safe and effective therapeutic responses.

Methods: In this work, it was possible to analyze the composition of cannabinoids in 41 extracts of Cannabis sp. (32 produced by associations and 9 produced by the patients themselves), determining the amount of THC and CBD in the samples, using the High Performance Liquid Chromatography (HPLC/HPLC) technique, as well as the presence of bacteria, using the Gram method.

Results: The median concentrations of THC and CBD dosed in the samples were 51% and 58%, lower than the expected concentration, respectively. Furthermore, the presence of Gram positive microorganism was observed in only one sample, suggestive of Staphylococcus Aureus.

Conclusion: Although associations have a noble social function, quality control in the production of medicines is important, with the proper titration of cannabinoids and microbiological analysis of the samples, which can be carried out through regulation by the Government.

Keywords: Cannabidiol; Cannabis sativa; cannabinoids; HPLC; THC.

LISTAS

Lista de abreviaturas

AEA	Anandamida
AMPc	Monofosfato Cíclico de Adenosina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CBD	Canabidiol
CBDA	Ácido canabidiólico
CBDV	Canabidivarina
CBG	Canabigerol
CBN	Canabinol
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDKL5	Cyclin-Dependent Kinase-Like 5
CFM	Conselho Federal de Medicina
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DCB	Denominação Comum Brasileira
DMF	Dimetilformamida
D.O.U	Diário Oficial da União
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
FDA	Food and Drug Administration
GABA	Gamma-Amino Butyric Acid
GBGA	Ácido canabigerólico
GC	Cromatografia Gasosa
LaPlaM	Laboratório de Plantas Medicinais
OMS	Organização Mundial da Saúde
PPEBD	Placa Preparativa Extrato Bruto Descarboxilado
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SIDA (AIDS)	Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (Acquired Immunodeficiency Syndrome)

SNC	Sistema Nervoso Central
THC	Tetrahydrocannabinol
THCA	Ácido Tetrahydrocannabinol
TRH	Terapia de Reposição Hormonal
UNESC	Universidade do Extremo Sul Catarinense
UNISUL	Universidade do Sul de Santa Catarina

Lista de quadros

Quadro 1 – Variáveis de estudo.....	43
-------------------------------------	----

Lista de figuras

Figura 1 - Diferenças morfológicas entre as três subespécies de <i>Cannabis sativa</i> L., <i>sativa</i> , <i>indica</i> , <i>ruderalis</i>	18
Figura 2 - Desenho botânico da <i>Cannabis sativa</i>	18
Figura 3 – Ilustração botânica de <i>Cannabis sativa</i> com destaque ao fruto...19	
Figura 4 - Foto ilustrativa da identificação dos botões florais de <i>Cannabis</i> machos e fêmeas.....	20
Figura 5 - Regiões cerebrais onde os canabinoides atuam.....	20
Figura 6 – Modelo de HPLC Prominence da marca Shimadzu.....	35
Figura 7 - parte interna do analisador HPLC.....	36
Figura 8 - Amostras das associações e/ou pacientes.....	37
Figura 9 - Desenho experimental.....	38
Figura 10 - Padrões adquiridos pela Sigma-Aldrich THC e CBD.....	39
Figura 11 - Calibração do CBD.....	40
Figura 12 - Curva de calibração THC.....	41
Figura 13 - Técnica de semeadura.....	42
Figura 14 - Técnica da coloração de Gram.....	43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	REFERENCIAL TEÓRICO	16
1.1.1	Histórico	16
1.1.2	Botânica da <i>Cannabis sp.</i>	18
1.1.3	Fitocanabinoides	22
1.1.3.1	Propriedades físico-químicas	23
1.1.3.2	THC	23
1.1.3.3	CBD	24
1.1.4	Sistema endocanabinoide (SEC)	25
1.1.5	Composição dos Extratos	26
1.1.6	Controle de qualidade de matéria-prima vegetal	29
1.1.7	Legislação Brasileira e <i>Cannabis sp.</i>	31
1.1.8	Associações Canábicas e Autocultivo	32
2	OBJETIVOS	34
2.1	OBJETIVO GERAL	34
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
3	METODOLOGIA	35
3.1	TIPO DE ESTUDO	36
3.2	MATERIAL E EQUIPAMENTOS	36
3.3	AMOSTRAS	37
3.4	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	38
3.5	DELINEAMENTO DO ESTUDO	38
3.6	ENSAIOS/TESTES/TÉCNICA	38
3.6.1	QUANTIFICAÇÃO DOS CANABINOIDES	38
3.6.2	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	40
3.7	VARIÁVEIS DE ESTUDO	44
3.8	PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS	44
3.9	ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA	45
4	ARTIGO	46
5	Considerações finais	65
	REFERÊNCIAS	65

1 INTRODUÇÃO

A *Cannabis sativa* é uma planta milenar descrita pela primeira vez por Carolus Linnaeus em 1753 e que possui valor terapêutico significativo. Esta planta é considerada quimicamente complexa por apresentar uma série de substâncias químicas de diversas classes, destacando-se os canabinoides, os quais são responsáveis pelos efeitos psicoativos e as atividades farmacológicas. Estes compostos vêm sendo utilizados no tratamento de dores crônicas e diversas enfermidades neurológicas/psiquiátricas, como Alzheimer, câncer, fibromialgia, autismo, esclerose múltipla, depressão, ansiedade, epilepsias, artrite reumatóide entre tantas outras patologias, sendo uma alternativa terapêutica no controle de doenças graves e incuráveis ¹.

No Brasil, a *Cannabis sativa* tem sido utilizada, principalmente, para dores crônicas e enfermidades neurológicas, embora o uso terapêutico de maior prevalência e eficácia comprovada nos estudos seja no controle de crises convulsivas em portadores de epilepsias refratárias¹. Neste caso, o uso da planta se dá principalmente na forma de extrato oleoso com teores de canabidiol (CBD) maiores que tetrahydrocanabidiol (THC), dois dos principais fitocannabinoides encontrados nesta espécie, por exemplo, em epilepsias refratárias. Os efeitos farmacológicos dependem da dose e da interação entre THC, CBD e outros componentes da planta (outros canabinoides, terpenos e flavonoides), os quais podem constar em diferentes proporções nos extratos oleosos. Ademais, diferentes populações de pacientes podem apresentar diferentes respostas ao uso da *Cannabis sp.* devido às características intrínsecas de cada organismo. Por este motivo, é necessário rigor na qualidade do produto que será utilizado ^{1,2}.

Dentre o grande número de substâncias químicas que já foram isoladas, destacam-se CBD e o THC, as principais moléculas responsáveis por suas propriedades terapêuticas, devido a interação com seus receptores CB1 distribuídos no Sistema Nervoso Central e CB2 no Sistema Nervoso Periférico ³⁻⁶. Os receptores endocanabinoides reconhecem os canabinoides encontrados na planta e, assim, proporcionam benefícios terapêuticos sobre uma diversidade

de doenças ⁷. Dessa forma, são substâncias que requerem estudo, pois afetam diversas áreas e podem auxiliar no tratamento de diversas patologias, com poder anticonvulsivante, analgésico, antiemético, dentre outros ⁸.

Atualmente, o acesso à *Cannabis* medicinal, no Brasil, ocorre de diferentes formas: medicamento disponível nas farmácias, principalmente com os canabinoides isolados, quantificados e por um alto custo (em torno de R\$ 2.000 até R\$ 3.000 reais); importação do medicamento (pois, em mais de 40 países o uso da *Cannabis* medicinal é autorizado), disponibilizado o certificado de análise do óleo com os componentes presentes no produto, em que os canabinoides se encontram isolados ou na forma *full spectrum* (todos os componentes da planta presentes), com os preços em torno de R\$ 1.000 reais. Através das associações canábicas, algumas com *Habeas corpus* coletivos, outras de maneira ilegal, as quais plantam a *Cannabis sativa* e produzem o extrato, normalmente de forma artesanal e sem a titulação dos componentes do medicamento, com preços que variam entre R\$ 200 e R\$ 500 reais; por fim, de forma individual, artesanal e sem titulação dos componentes, o próprio paciente planta a *Cannabis sativa*, seja com *Habeas corpus* impetrado ou não, e produz seu próprio óleo artesanal, com custos menores ou semelhantes aos produtos disponibilizados pelas associações ^{9,10}.

Dessa forma, é possível inferir que o custo dos medicamentos provenientes das farmácias nacionais ou dos produtos importados são altos e dificultam o acesso do paciente ao tratamento. Já através dos medicamentos disponibilizados pelas associações ou por meio do cultivo individual, o custo é, comparativamente, mais baixo e acessível ao paciente, possibilitando o uso do medicamento à base de *Cannabis sativa* ^{9,10}.

Apesar dos menores custos com os medicamentos canabinoides provenientes das associações ou do auto cultivo, existem poucos estudos que abordam análises microbiológicas e a quantificação de THC e CBD existente entre esses extratos artesanais e não se sabe se a quantidade administrada é correta ou se o produto é seguro ¹. Torna-se difícil saber a procedência da parte utilizada, bem como se ela contém algum químico, aditivo, microrganismos, metais pesados e, principalmente, a concentração dos canabinoides no extrato utilizado ⁶. É necessário saber a dosagem dos canabinoides e se existem taxas de contaminação microbiana nesses extratos artesanais que estão sendo

administrados, de forma a evitar mudanças na identidade e qualidade do extrato. Faz-se importante subsidiar estratégias de monitoramento desses produtos diminuindo os riscos, a fim de garantir a segurança do paciente e a efetividade do produto, pois esta abordagem ainda não é adotada por grande parte dos produtores de óleos artesanais no Brasil ^{9,10}.

Diante deste contexto, este trabalho tem como objetivo central contribuir para a ampliação do conhecimento sobre a qualidade microbiológica e caracterização da dosagem de CBD e THC por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) que existe nos extratos oleosos de *Cannabis sativa* produzidos artesanalmente por associações e/ou pacientes. Nesse sentido, duas perguntas norteadoras desta pesquisa foram as seguintes: Quais as dosagens de CBD e THC encontrados nos extratos artesanais? Há contaminação microbiológica nos extratos artesanais?

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1 Histórico

A *Cannabis sativa*, planta ancestral e companheira do ser humano há milhares de anos (acredita-se que há mais de 12 mil anos), originária, possivelmente, do planalto tibetano, Ásia Central, e difundida à Eurásia, vem sendo amplamente reconhecida cientificamente pelas suas propriedades medicinais. É constituída de fitocanabinoides, especialmente o CBD e o THC, além de terpenos e flavonoides. Essas substâncias somam juntas, mais de 140 compostos ativos que interagem no organismo humano por meio do sistema endocanabinoide (SEC) ¹¹.

Os primeiros registros do uso de *Cannabis* como fonte de fibras e grãos datam há cerca de 12 mil anos atrás, na Ásia Central ^(11,12). Posteriormente, os chineses descobriram e desenvolveram inúmeras formas de uso da planta, como na fabricação de cordas e de artefatos de decoração, na produção de papéis, bem como na alimentação e no uso recreacional ^(13,14). O primeiro uso reportado da *Cannabis sativa* como medicamento, atribuído ao imperador chinês Shen Nung, ocorreu em torno de 2700 a.C. Seus ensinamentos foram transmitidos de geração em geração até serem registrados por escrito no primeiro livro de agricultura e plantas medicinais do mundo, Shen Nung Pen-Ts'ao Ching ^{12, 13}.

Devido ao seu interesse pela medicina moderna, em 1839, o médico irlandês William Brooke O'Shaughnessy investigou o uso da *Cannabis sativa* na Índia, onde observou seu uso como narcótico e também com finalidade medicinal ⁽¹⁾. Após realizar testes em animais e humanos, o doutor O'Shaughnessy iniciou o tratamento de doenças como cólera, convulsões infantis e tétano a partir da tintura de *Cannabis sativa*. ^{14, 15}.

Anos mais tarde, em 1899, químicos britânicos isolaram o canabinol, o primeiro canabinoide identificado na planta. Com o decorrer dos avanços na área de química, tornou-se possível sintetizar e isolar substâncias ativas de plantas medicinais. A enciclopédia *Sajous's Analytic Cyclopedia of Practical Medicine* apresentava indicações médicas para a utilização da *Cannabis* para várias enfermidades de diferentes áreas: sedativo, hipnótico, analgésico ou

outros usos nas mais diversas doenças, como, diarreia, diabetes, palpitação cardíaca e vertigem ¹⁵.

Nos anos seguintes, entre 1932 e 1964, os fitocanabinoides foram isolados, sendo que em 1932 foi elucidada a estrutura do canabinol, em 1940 foi isolado o canabidiol e em 1964 foi isolado e elucidado a estrutura do tetrahydrocannabinol ⁽¹⁶⁾. No mesmo período, iniciou-se também a implantação de uma série de restrições legais com relação ao uso médico e experimental da *Cannabis sp.* em vários países ¹⁷.

Na década de 30 no Brasil, medidas de repressão com relação ao uso da planta foram intensificadas. Foi no ano de 1938, por meio do Decreto-Lei nº 891, do Governo Federal, que ocorreu a proibição total do plantio, da cultura, da colheita e da exploração, por particulares, da planta em território nacional ¹⁷.

No ano de 1964, na *The Hebrew University of Jerusalem*, o químico israelense Raphael Mechoulam isolou e elucidou a estrutura do canabinoide THC ⁽¹⁸⁾. Desta forma, ocorreu uma proliferação de pesquisas científicas em torno dos componentes ativos presentes na *Cannabis*, além da exploração de seus efeitos farmacológicos e fisiológicos até por volta de 1961, quando começaram a diminuir os estudos devido à Convenção Única sobre Entorpecentes. Nesta convenção, a Organização das Nações Unidas (ONU) sugeriu ações coordenadas e universais contra as drogas, adicionando a *Cannabis sp.* nesse contexto. Em decorrência destes fatos, os estudos da planta durante as duas décadas seguintes foram prejudicados ¹⁷.

No Brasil, a *Cannabis sp.* foi trazida para a América do Sul através dos colonizadores europeus, sendo que as primeiras plantações foram feitas no Chile ⁽¹⁶⁾. De acordo com o professor Elisaldo Carlini, a vinda da planta para o Brasil está relacionada à chegada das primeiras caravelas portuguesas, por volta de 1500. As velas e cordas das embarcações eram feitas de fibra de cânhamo. Os índios, por sua vez, passaram também a cultivar esta planta ⁽⁹⁾. Relatos do uso terapêutico de *Cannabis sativa*, no Brasil, existem desde 1961, quando o médico homeopata Alexandre José de Mello Moraes descreveu o uso da planta para tratamento de diversas enfermidades, como catarata, impotência, gonorreia, retenção urinária, espasmos e dor nos rins ¹⁹. A propagação da planta não apenas no Brasil, mas mundialmente, ocorreu, a princípio, por meio de suas

indicações terapêuticas, sendo ela um dos três medicamentos de maior prescrição ao longo do século XIX ¹⁶.

A criminalização da *Cannabis sativa* a nível mundial atrasou significativamente o desenvolvimento de pesquisas científicas, dificultando o acesso à planta, representando o principal desafio para os pesquisadores. Até os dias atuais, devido ao amplo interesse e a vasta pesquisa realizada em torno da *Cannabis sativa*, a comunidade científica obteve muito progresso e compreensão de aspectos químicos, farmacológicos e toxicológicos relacionados aos canabinoides presentes na planta, prospectando um arcabouço de informações científicas que permitiram o melhor entendimento dos seus efeitos terapêuticos e não terapêuticos no corpo humano ^{19, 20}.

A primeira investigação científica no Brasil foi realizada pelo Professor Elisaldo Carlini, na década de 80, em que testou o efeito da *Cannabis sativa* na epilepsia. Nesta ocasião foi realizado um estudo clínico duplo-cego em pacientes que sofriam pelo menos uma crise convulsiva generalizada por semana, apesar de estarem recebendo algum medicamento anticonvulsivante. A referida pesquisa encontrou resultados promissores. Contudo, hoje, sabe-se que para a aplicação da *Cannabis sp.* e sua utilização na área da saúde é necessário amplo conhecimento de suas propriedades terapêuticas e, principalmente, suas características botânicas ^{21, 22, 23}.

1.1.2 Botânica da *Cannabis sativa*

O nome de gênero “*Cannabis*” significa “similar à cana” e o nome de espécie “*sativa*” significa “plantada ou semeada”, uma vez que a planta se propaga através de sementes e não de raízes perenes. Em 1974, o gênero *Cannabis* foi categorizado em três espécies: *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* e *Cannabis Ruderalis*, conforme figura 1. Em 1976, a espécie *Cannabis sativa* foi dividida em duas subespécies, *sativa* e *indica*, cada uma apresentando variedades domesticadas e selvagens. Entretanto, essa classificação não foi universalmente aceita, sendo considerada que a *Cannabis* é uma planta monotípica com apenas uma espécie, a *Cannabis sativa*. As controvérsias taxonômicas sobre a *Cannabis sativa* continuam até o presente momento ²⁴.

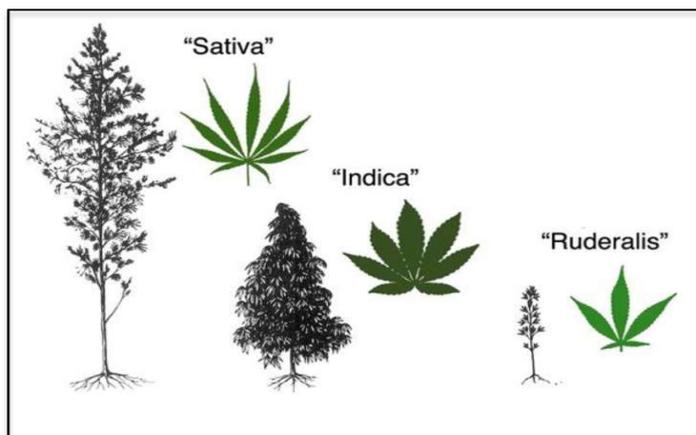


Figura 1: Diferenças morfológicas entre as três subespécies de *Cannabis sativa*, *indica*, *ruderalis*. **Fonte:** McPartland, 2018

A planta *Cannabis sativa* é considerada herbácea, dióica (produz plantas masculinas e femininas, distintas), anual, dicotiledônea angiosperma e pertence à família *Cannabaceae* ²⁵. Cresce geralmente em regiões tropicais e temperadas, usualmente ereta, com hastes variáveis, pubescência ressonante, angulares, por vezes côncavas; as folhas basais são opostas e as folhas superiores alternadas, com folhetos acuminados de até 10 cm de comprimento e 1,5 cm de largura, conforme figura 2.



Figura 2: Desenho botânico da *Cannabis sativa*. **Fonte:** HempCannabis, 2022.

Ainda, devido à dificuldade de distinguir as subespécies da planta tanto química como morfológicamente, uma vez que a *Cannabis sativa* apresenta contínuas modificações conforme o ambiente em que foi plantada, a denominação *Cannabis sativa* é considerada adequada para todas as plantas

encontradas neste gênero ⁽²⁵⁾. Embora haja constante discussão em referência à classificação botânica da *Cannabis sativa* desde que ela foi classificada pela primeira vez em 1753, pelo botânico sueco Carolus Linnaeus (Carl Von Linné), o “Manual para uso dos laboratórios nacionais de análises de drogas” do Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime considera que a planta apresenta apenas uma espécie reconhecida, sendo ela a *Cannabis sativa*. ²⁶.

A planta masculina morre pouco tempo após espalhar o pólen, enquanto a planta feminina sobrevive até que as sementes amadureçam ou até que a temperatura esteja muito baixa. Embora a genética da planta determine que ela se torne macho ou fêmea, fatores ambientais incluindo o ciclo de luz diurno, podem alterar o sexo da planta (hermafroditas). Hermafroditas naturais com ambos os sexos geralmente são estéreis, mas hermafroditas induzidas artificialmente podem ter órgãos reprodutores totalmente funcionais ²⁵.

Os frutos da *Cannabis sativa*, comumente referidos como sementes, são pequenas nozes secas, denominadas aquênios. O fruto contém semente única constituída por dois cotilédones sendo que grande parte da sua massa é rica em substâncias de reserva, como, por exemplo, amido, lipídeos e sacarose ²⁵.

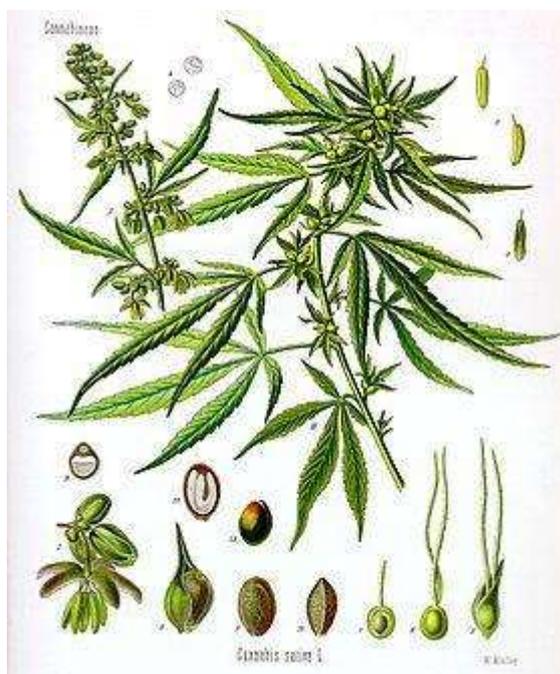


Figura 3: Ilustração botânica de *Cannabis sativa* com destaque ao fruto.

Fonte: IsDtok Imagens, 2022.

O ciclo de crescimento da *Cannabis sativa*. pode ser dividido em quatro fases: germinação e emergência; fase vegetativa; floração e formação de sementes; e senescência. A fase vegetativa, por sua vez, ainda pode ser novamente dividida em três fases: fase juvenil; fase fotossensível; e fase de desenvolvimento da flor. As plantas masculinas cessam seu desenvolvimento após produção de pólen e em seguida morrem ²⁵.

A concentração de compostos psicoativos (canabinoides) na *Cannabis sativa*. leva em consideração uma função de fatores genéticos e ambientais, tais como: o tipo de solo, o tempo de cultivo (maturação da planta) e o tratamento da amostra (secagem, estocagem, extração e condições de análise) ⁴.

A distribuição dos canabinoides na planta não é uniforme, estando ausentes nas sementes e nas raízes e presentes em pequenas quantidades nos caules e nas folhas inferiores, com concentrações maiores nas folhas superiores, atingindo a maior concentração na flor da planta fêmea. Entretanto, o conteúdo canabinoide floral varia consideravelmente em uma única planta ⁴.

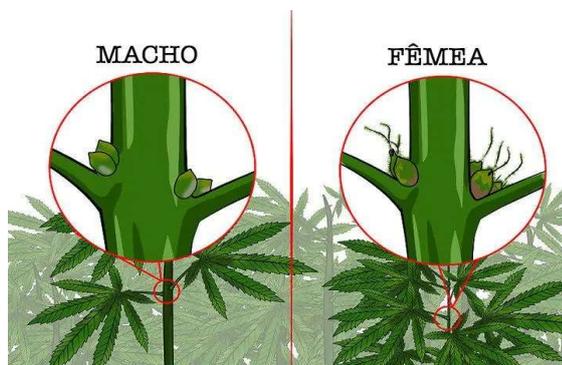


Figura 4: Foto ilustrativa da identificação dos botões florais de *Cannabis* machos e fêmeas. **Fonte:** Site Cannalize, 2020.

Existe popularmente uma cultura de que somente a planta fêmea fornece a resina ativa, não sendo cultivado frequentemente as plantas machos. Entretanto, estudos comprovam que independente de serem machos ou fêmeas, há a presença de canabinoides, terpenos e flavonoides em ambos os sexos das plantas, com efeitos farmacológicos ativos, apesar da planta fêmea apresentar maiores concentrações de canabinoides, especialmente nas flores. A convicção de que somente plantas fêmeas contêm resina ativa foi atribuída, provavelmente,

devido à prática agrícola de eliminar plantas machos das plantações de *Cannabis sp.*, a fim de evitar a fertilização²⁸.

Existem diferentes tipos de preparo de *Cannabis sativa* e cada um deles tem seu próprio nome. A resina seca extraída das flores de plantas femininas é chamada de haxixe e apresentam maior porcentagem de compostos psicoativos (de 10 a 20%). Quando utilizado só material seco encontrado no topo das plantas femininas, é chamado de Ganja e contém em torno de 5 a 8% de compostos psicoativos. E quando chamados de Bhang, as substâncias psicoativas extraídas de folhas e caule da *Cannabis sativa* são preparos com índices menores de canabinoides (de 2 a 5%)²⁹. Os fitocanabinoides, presentes em ambas as plantas são peças fundamentais para o entendimento das atividades farmacológicas da *Cannabis sativa*.

1.1.3 Fitocanabinoides

Os fitocanabinoides são substâncias de ocorrência natural e origem vegetal capazes de atuar nos receptores CB1 e CB2 presentes no organismo humano⁽³⁰⁾. São compostos terpenofenólicos produzidos, especialmente, pela *Cannabis sp.* Atualmente, já foram identificados mais de 100 fitocanabinoides, sendo o THC e o CBD os mais estudados. A extração dessas substâncias, em geral, é feita no topo das plantas femininas e a concentração delas depende de fatores genéticos e elementos ambientais, tais como: temperatura, clima, solo, umidade, tempo de cultivo, tratamento da amostra e o tipo de secagem³¹.

Ademais, células do corpo humano produzem substâncias com ações semelhantes aos fitocanabinoides, as quais são conhecidas como endocanabinoides. Os representantes mais bem descritos dos endocanabinoides são a anandamida (AEA) e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG). Todavia, apesar de agirem nos mesmos receptores, os canabinoides produzidos pela planta apresentam importantes diferenças estruturais e farmacológicas em relação aos endocanabinoides³².

1.1.3.1 Propriedades físico-químicas

Todos os canabinoides, que são biossintetizados em uma forma carboxilada, a partir do ácido cannabigerólico (CBGA), formando, através de vias enzimáticas, compostos como o ácido canaólico (CBDA) e o ácido tetrahydrocannabinólico (THCA) ⁴. Esses ácidos são substâncias instáveis e, em contato com calor e luz ultravioleta (UV), sofrem descarboxilação e dão origem ao CBD e ao THC, respectivamente. O THC pode, ainda, ser aromatizado, sob ação da luz UV, ser aromatizado e formar o canabinol (CBN) ³³.

1.1.3.2 THC

O THC é o fitocanabinoide mais comum da *Cannabis*, conhecido, especialmente, por sua ação psicotrópica. Os principais efeitos desse canabinoide são euforia, riso fácil, analgesia, ação antiespasmódica e anti-inflamatória, relaxamento muscular e sedação ³⁴.

O THC é uma resina insolúvel em água, portanto, é mais eficientemente absorvida por via inalatória, tendo uma baixa biodisponibilidade por via oral, assim como o CBD. Uma vez absorvidos, o THC e os outros canabinoides atingem uma concentração sanguínea de 25 a 30% do total que foi inalado, havendo distribuição para todos os tecidos, em padrões que variam de acordo com o fluxo sanguíneo do usuário. Seu metabolismo é principalmente hepático pela ação das isoenzimas CYP2C9, CYP2C19 e CYP3A4, sendo transformado em 11-hidroxi-THC e em 11-carboxi-THC. O 11-hidroxi-THC também possui atividade psicoativa. A excreção desses metabólitos ocorre pelas fezes e pela urina ³⁵.

Ele possui alguns efeitos colaterais como, por exemplo, sintomas psicóticos, alteração da percepção, aumento da ansiedade, déficits cognitivos e toxicidade cardíaca. Esses efeitos dependem da dose administrada e, em geral, a coadministração de CBD diminui a intensidade desses sinais e sintomas. Ademais, essa substância pode atravessar a placenta e é excretado no leite materno, sendo importante, por conseguinte, o cuidado com o uso em mulheres grávidas ou lactantes ³⁶.

1.1.3.3 CBD

O CBD é o segundo fitocanabinoide mais comum e de grande interesse na área da saúde. Cepas da *Cannabis* rica em canabidiol fornecem potentes benefícios terapêuticos sem a euforia ou a letargia de muitas variedades com alto teor de THC. Esse canabinoide possui inúmeras ações farmacológicas, incluindo ansiolítica, antipsicótica, antiemética e anti-inflamatória, e é considerado seguro e tolerável, não possuindo efeitos adversos sérios ou significantes além de sedação leve e náuseas³⁷.

Assim como o THC, é um composto praticamente insolúvel em água, porém solúvel em solventes orgânicos. Sua farmacocinética também é dependente da via de administração, sendo que, quando administrada por via oral, a biodisponibilidade é relativamente baixa (cerca de 6%). Ele é metabolizado especialmente pelas isoenzimas CYP2C19 e CYP3A4 presentes no fígado. Seus dois principais metabólitos são o 7-hidroxi-CBD e o 7-carboxi-CBD. A atividade farmacológica desses metabólitos ainda não foi totalmente elucidada, porém, em camundongos, o 7-hidroxi-CBD possui ação anticonvulsivante e o 7-carboxi-CBD é considerado um metabólito inativo³⁵.

O CBD funciona como um modulador alostérico negativo do receptor CB1, ou seja, ele é capaz de afetar a interação de outros canabinoides com esse receptor. Porém, a afinidade entre eles é considerada baixa e a atuação em outros receptores parece apresentar relevância mais significativa no tratamento de patologias³⁵.

Grande parte dessas substâncias é excretada nas fezes e, em menor quantidade, na urina. Após doses únicas em seres humanos, o tempo de meia-vida do CBD, quando administrado por via oral, é cerca de 1 a 2 dias. Algumas evidências mostram que, com o uso crônico, o CBD e outros canabinoides podem se acumular no tecido adiposo e, quando há perda desse tecido (como no emagrecimento) é possível que ocorra persistência da atividade dessas substâncias mesmo após semanas da administração³⁵.

O CBD e o THC possuem uma ação sinérgica, o que significa que, quando ambos estão presentes em níveis terapêuticos, são mais efetivos juntos do que separados. Esse efeito é conhecido como efeito *entourage* ou comitiva e,

segundo alguns autores, a presença de outros fitocanabinoides, como canabigerol (CBG), o canabicromene (CBC) e a tetrahidrocanabivarina (THCV), terpenos e flavonoides também contribui para esse resultado ³⁸.

1.1.4 Sistema endocanabinoide (SEC)

O SEC possui uma fisiologia complexa, executando funções reguladoras, especialmente no SNC e no sistema imunológico. Sua descoberta, no fim dos anos 80, proporcionou novas perspectivas sobre um esquema neuro e imunomodulador, tornando-o um alvo terapêutico importante para vários distúrbios, como náuseas, vômito, dor, inflamação, doenças cardiovasculares, glaucoma, câncer, espasticidade e epilepsia ^{39, 40}. Esse sistema é composto por um conjunto de receptores canabinoides do tipo CB1 e do tipo CB2 e por endocanabinoides (eCBs): anandamida, 2-AG, noladina, virodamina e N-aracdonildopamina ⁴¹.

Os eCBs não são sintetizados nas terminações pré-sinápticas ou armazenados em vesículas, como acontece com os neurotransmissores clássicos. Sua produção ocorre no corpo e dendritos dos neurônios em resposta ao influxo de cálcio induzido por glutamato ou ácido gama-aminobutírico (GABA), promovendo a ativação de fosfolipases, as quais convertem os fosfolipídios em eCBs. Essas substâncias são produzidas sob demanda, conforme atividade sináptica excitatória, e liberadas na fenda sináptica, atuando de maneira retrógrada e ativando os receptores eCBs dos neurônios pré-sinápticos ³⁹.

Os receptores CB1 (receptores centrais) são amplamente distribuídos no organismo, principalmente em células endoteliais e adipócitos. Porém são encontrados em maior quantidade no SNC, em áreas como o tronco encefálico, córtex cerebral, hipocampo, cerebelo e núcleos da base, mediando a maioria das respostas dos canabinoides nesse sistema (figura 3). Esse receptor é acoplado à proteína G inibitória e, quando ativado, promove a inibição da enzima adenilato ciclase, provocando a redução de AMP cíclico e de proteínas quinases, inibição dos canais de cálcio voltagem dependentes e, por conseguinte, queda e/ou inibição da liberação de neurotransmissores nas terminações pré-sinápticas ³⁹.



Figura 5 - Regiões cerebrais onde os cannabinoides atuam. **Fonte:** Joy, Watson e Benson (1999).

Já os receptores CB2 encontram-se, preferencialmente, em células do sistema imunológico, fora do SNC, denominados, então, receptores canabinoides periféricos, importantes para a imunomodulação. Assim como os receptores CB1, eles são acoplados à proteína G inibitória que, quando ativada, promove a inibição da enzima adenilato ciclase, provocando a redução dos níveis de AMP cíclico, a inibição de canais de cálcio e a queda e/ou inibição da liberação de citocinas ⁴².

Além disso, o CBD é capaz de antagonizar o receptor 55 acoplado à proteína G (GPR55), inibindo, assim, a liberação de cálcio intracelular e a hiperexcitabilidade de neurônios epilépticos. Ele também pode dessensibilizar o receptor transitório dos canais vaniloides tipo 1 (TRPV1), diminuindo o influxo de cálcio extracelular. Por fim, o CBD ainda faz um bloqueio do transportador de nucleosídeo equilibrado (ENT1), reduzindo a captação de adenosina e, com isso, aumentando a concentração extracelular dessa molécula, o que deprime a excitabilidade neuronal. Por tais motivos, é possível que o CBD também tenha ação anticonvulsivante através do bloqueio de canais de sódio voltagem dependentes e de canais de cálcio tipo T, da interação com canais de potássio voltagem dependentes, com receptores 5-HT1a e com receptores $\alpha 3$ e $\alpha 1$ glicina e modulação da proteína do canal seletivo do ânion dependente de voltagem (VDAC1) e da liberação de fator de necrose tumoral alfa ³⁷.

1.1.5 Composição dos Extratos

Os extratos medicinais de *Cannabis* são produzidos com as flores das espécimes pistiladas (fêmeas) ⁴³. Basicamente, a extração é classificada com extração sólido-líquido, pois as flores são a parte sólida e o extrato será constituído do solvente extrator. Antes da extração, as amostras passam pelo processo de secagem, que pode ocorrer em estufas de circulação natural ou à vácuo e em liofilizadores, que realizam o processo sem aquecimento. As amostras secas são então moídas e precede-se a extração⁷¹.

Com relação à extração, existem diversos métodos, uns clássicos, como hidrodestilação, extração por arraste de vapor, maceração, extração com gordura fria (enfleurage) e extração por Soxhlet, e outros mais modernos, como extração assistida por ultrassom, extração por fluido supercrítico, extração líquido pressurizada, extração assistida por micro-ondas. A sofisticação dos métodos, acarreta maiores aparatos, o que ocasiona também a elevação dos custos e, como vantagem, a maior eficiência de extração ⁴⁴.

A extração da *Cannabis* é um processo muito antigo, utilizado para conseguir retirar da planta substâncias que podem ser utilizadas para diversas circunstâncias. Canabinoides, terpenos e flavonoides, por exemplo, são os responsáveis pelo sabor, odor e por inúmeras ações medicinais no corpo humano. Como resultado, o produto é muito mais potente que a planta da *Cannabis* em sua forma natural. É possível utilizar apenas os compostos desejados para objetivos específicos e de forma concentrada. Os métodos utilizados para extração também podem variar de acordo com seus objetivos. Geralmente, os canabinoides são sensíveis à ação da temperatura. Com isso, as análises são efetuadas através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), que não utiliza de temperaturas altas para trabalho, ou cromatografia gasosa (GC), para estabilizar termicamente essas substâncias após a etapa de derivatização ⁴⁵. No fim, obtém-se um extrato rico em canabinoides, apenas removendo o solvente orgânico ^{46,47,48,71}.

Existem inúmeros métodos para utilizados para extração da *Cannabis*, como: método de Rosin – o método da resina não precisa de solvente. O processo é parecido com o da extração do azeite, em que a matéria prima é

prensada. Dela escorre uma resina, espécie de óleo concentrado. Método de Óleo – é o mais usado e antigo dos métodos. As flores são colocadas em um óleo. A matéria-prima aos poucos solta seus componentes solúveis como em uma infusão típica da gastronomia. O método de Butano – O butano é um método popular para extrair as substâncias da *Cannabis*, mas um dos métodos mais perigosos também por ser um material altamente inflamável e explosivo. Ele é um solvente eficaz quando colocado na matéria-prima seca e moída. Pela alta volatilidade, basta um pouco de calor, que ele evapora da resina resultante. CO₂ – o processo parece com a extração à base de álcool. O dióxido de carbono (CO₂), por ser considerado mais seguro, se tornou o solvente muito defendido entre os extratores da comunidade de *Cannabis*. No entanto, o método possui alto custo. O método que utiliza o Álcool é uma das formas mais antigas e mais utilizadas de extração envolve o uso de etanol. Feito com álcool isopropílico, substância usada na indústria de alimentos, as flores são colocadas dentro dele em um processo de saturação e o extrato é filtrado. Para a retirada do álcool, ele ainda passa por uma destilação ⁴⁹.

A sofisticação dos métodos acarreta maiores aparatos, o que ocasiona também a elevação dos custos e, como vantagem, a maior eficiência de extração. Desta forma, a escolha de um método de extração deve ser uma decisão que leve em conta diversos fatores, como: quantidade do extrato a ser produzido, nível de pureza do extrato, estabilidade dos canabinoides durante a extração, custo e impacto ambiental. Dentre estes parâmetros de escolha, algumas variáveis são de grande relevância, pois influenciam mais de um desses fatores. Por exemplo, a temperatura de extração influencia tanto no custo da extração quanto na estabilidade das canabinoides, pois sabe-se que existem algumas interconversões causadas pela temperatura ⁵⁰.

Pode-se perceber a dificuldade de pequenos e médios produtores, como as Associações de pacientes, para obter uma análise que certifique o controle de qualidade de seus produtos, e dos laboratórios para serem credenciados. Devido as recentes regulamentações, datadas de 2019 (RDC 12 327) e 2020 (RDC 11), ainda são escassos os laboratórios credenciados que realizam análise de canabinoides em território brasileiro ^{51, 52}.

1.1.6 Controle de qualidade de matéria-prima vegetal

Qualquer controle de qualidade de extratos medicamentosos é realizado através de análises químicas dos seus constituintes e do veículo utilizado para o preparo. As análises englobam tanto a dosagem dos princípios ativos quanto a pureza do medicamento. Muitas das preparações que utilizam plantas medicinais ainda necessitam de estudos científicos mais detalhados, incluindo padronização química, testes biológicos *in vitro* e *in vivo* e avaliação clínica. Para a etapa de avaliação clínica, o controle de qualidade passa a ser uma prática totalmente indispensável. Métodos de controle de qualidade de algumas plantas medicinais já validados estão presentes, por exemplo, nas Farmacopeias dos Estados Unidos, Chinesa, Japonesa em monografias da OMS, e na Farmacopeia Brasileira, que, por sua vez, inclui aproximadamente 44 monografias de plantas medicinais na sua maioria não nativas do Brasil ⁵³.

No Brasil, em 2004, foi aprovada a Resolução nº 48, que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e, entre outros pontos, abrange as etapas de controle de qualidade da droga vegetal, do produto acabado e da importação de produtos fitoterápicos ⁽⁵³⁾. Em 1998, a Organização Mundial da Saúde reuniu procedimentos no documento *Quality control methods for medicinal plant materials*, que podem ser tomados como base para que auxiliem as nações, a partir de sua legislação, para formarem padrões de controle de qualidade de drogas vegetais e produtos ⁵⁴.

O isolamento das substâncias é possível com a técnica cromatográfica, identificando a composição química do extrato vegetal, ainda auxilia na determinação da substância com o intuito de ajudar no controle qualitativo e quantitativo da droga vegetal, propiciando a padronização do material e dos produtos relacionados. Um exemplo é a cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) que consiste em um método eficiente no controle de qualidade ⁵⁵.

Existe uma necessidade urgente de padronização desses extratos. Desta forma, o controle de qualidade é importante para o conhecimento da concentração de THC e CBD. Concentrações diferentes podem implicar em efeitos adversos que podem comprometer a segurança e a eficácia do tratamento. Não realizado o controle de qualidade do produto de extrato natural

e sem os cuidados das boas práticas de produção de medicamentos pode produzir efeitos indesejados ⁵⁶.

Existe uma grande preocupação quanto ao extrato artesanal, pois não há padronização ou, quando existente, ela é precária. O uso medicinal atual da *Cannabis sp.*, seja ele autorizado, tolerado, discutido ou estritamente proibido, está associado a dúvidas sobre o uso seguro. O controle de qualidade é uma prática necessária para garantir a eficácia e segurança de uso, porém não existe até o momento, legislação vigente adequada para este propósito ⁵⁷.

Através da RDC nº 10/2010 que a ANVISA passou a regular a produção, o comércio e o uso de drogas vegetais, liberando-as para utilização pela população na forma de produtos industrializados, para os quais são estabelecidos e controlados requisitos de qualidade, segurança e forma de uso. Segundo esta resolução, drogas vegetais são produtos de venda isenta de prescrição médica, são utilizadas para tratamento sintomático de doenças de baixa gravidade, padronizadas para cada uma das espécies selecionadas, sendo assim não são enquadradas como medicamentos ⁵⁸.

Segundo a resolução RDC Nº 48, de 16 de março de 2004 emitido pela ANVISA que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos, este medicamento é definido como: medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança é validada através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecno científicas em publicações ou ensaios clínicos fase 3. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais ⁵⁹.

Além disso, os produtos tradicionais fitoterápicos não podem ser destinados ao manejo de doenças, distúrbios, condições ou ações consideradas graves, não podem conter matérias primas em concentração de risco tóxico conhecido e não devem ser administrados pelas vias injetável e oftálmica. A *Cannabis* está presente na lista de espécies que não podem ser utilizadas na composição de produtos tradicionais fitoterápicos, de acordo com a RDC nº 26, de 13 de maio de 2014, que difere medicamentos fitoterápicos de produtos

tradicionais fitoterápicos. Deste modo, a ausência de legislação vigente referente à padronização dos extratos da *Cannabis* torna os pacientes mais vulneráveis à eficácia dos extratos produzidos no Brasil ⁶⁰.

1.1.7 Legislação Brasileira e *Cannabis sativa*

Em 2014, há quase uma década, o Conselho Federal de Medicina (CFM) publicou a Resolução nº 2.113/2014, referente ao uso compassivo do CBD para o tratamento de epilepsias em crianças e adolescentes refratárias aos tratamentos convencionais. Também, essa resolução restringiu a prescrição aos profissionais especializados em neurocirurgia, neurologia e psiquiatria, com previsão de rever tal normativa em dois anos, a partir de sua publicação, fato que, em 2022, ainda não ocorreu ⁶¹.

Depois, em 2015, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou duas RDCs (RDC nº 03/2015 e 17/2015) que incluíam o CBD na lista de substâncias controladas e informavam os procedimentos para importação de produtos à base desse canabinoide mediante a prescrição de profissional médico legalmente habilitado. No ano seguinte, a ANVISA atualizou a Portaria SVS nº 344/1998, a qual dispõe sobre as substâncias controladas, e permitiu o registro de medicamentos derivados da *Cannabis* na posologia máxima de 30 mg/ml de THC e 30 mg/ml de CBD ⁽⁶²⁾. Fato este que culminou com a RDC nº 156/2017, reconhecendo a *Cannabis sativa* como planta medicinal na farmacopeia brasileira ⁶³.

Já em 2019, a ANVISA publicou uma importante resolução, atualmente, em vigência, a RDC nº 327/2019. Tal resolução aborda o acordo autorizado sanitariamente para a comercialização, desincumbência, monitoramento e fiscalização de produtos de *Cannabis sativa* para fins medicinais em seres humanos. Esta resolução, no artigo nº 13, identifica os profissionais médicos, independente da especialidade, desde que legalmente habilitados, como aptos a prescrever os produtos à base de *Cannabis*. Ademais, nos artigos nº 48 e 49 são deliberados que o médico assistente responsável pelo paciente poderá

prescrever, desde que apoiado em dados técnicos capazes de sugerir que essa alternativa seja eficaz e segura ⁵¹.

Nesta linha, a RDC nº 660/2022, em vigência desde o início de maio de 2022, que substituiu a RDC nº 335/2020, definiu os critérios e os procedimentos para a importação de produtos derivados de *Cannabis*, por pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde, otimizando o processo de análise para a importação do produto ⁶⁴.

Ademais, conforme Resolução nº 680/2020, emitida pelo Conselho Federal de Farmácia, o farmacêutico está autorizado a dispensação de medicamentos e produtos à base de *Cannabis sativa*. Dessa forma, atualmente, no Brasil, existem diversos medicamentos à base de CBD e THC disponíveis nas drogarias, como, por exemplo: Canabidiol Prati Donaduzzi 200mg/ml e o Mevatyl (THC 27mg/ml e CBD 25mg/ml), dentre outros, os quais são produtos que possuem um alto custo, em torno de R\$ 2.000 até R\$3.000 reais, o que dificulta o acesso ao tratamento por parte dos pacientes ⁵².

Outra forma de acesso, conforme regulamentada pela atual RDC nº 660/2022 ⁽⁶⁵⁾, é a importação de medicamentos à base de *Cannabis sp.*, como, por exemplo: Canabidiol *USA Hemp* 100mg/ml *Full Spectrum* e Canabidiol *Natyva Care* 100mg/ml *Full Spectrum*, dentre outros, os quais, também, apresentam um valor elevado, em torno de R\$ R\$1.000 reais, pois além do produto ter um alto custo, o processo de importação e aquisição do medicamento deve ser subsidiado pelo próprio paciente. Assim, como estratégia para evitar os preços elevados desses medicamentos, os pacientes recorrem às associações e/ou à justiça brasileira a fim de ter seu tratamento garantido de forma menos onerosa ⁶⁶.

1.1.8 Associações Canábicas e Autocultivo

Diante do alto custo das medicações canabinoides disponibilizadas nas farmácias nacionais e das medicações disponíveis para a importação, duas opções de acesso ao medicamento podem ser obtidas pelos pacientes: através das associações canábicas e por meio do autocultivo ⁹.

Atualmente, existem três associações que podem produzir, de forma legal, o medicamento à base de *Cannabis sativa* no Brasil, a saber: ABRACE, Associação Brasileira de Apoio à Cannabis Esperança, a qual possui sua sede em João Pessoa (PB); a APEPI, Apoio e Pesquisa a Pacientes de Cannabis, na cidade do Rio de Janeiro (RJ); e a Cultive, na cidade de São Paulo (SP). Ambas as associações possuem autorização judicial para fins de cultivo coletivo e fornecimento de óleo aos seus associados. A ABRACE, sozinha, atende, ao menos, 30.000 pacientes que precisam do tratamento à base da *Cannabis* medicinal. Outras diversas associações pleiteiam, na justiça, a autorização para poder produzir e fornecer o extrato de *Cannabis sp.* aos seus associados, dentre elas a Santa Cannabis, Associação Brasileira de Cannabis Medicinal, com sede em Florianópolis (SC), a qual atende diversas famílias, especialmente no sul do Brasil^{67,68}.

Além da produção e fornecimento do medicamento, as associações representam a maior plataforma de apoio aos pacientes e seus familiares. Elas desempenham um papel fundamental na articulação das demandas pelo acesso legal à *Cannabis*, proporcionando o contato entre pacientes, médicos e advogados, e servindo como grupo de acolhimento e de informação segura para as pessoas. Prestam um serviço essencial, portanto, a todos que estão envolvidos e interessados nas potencialidades medicinais da planta⁶⁹. Dessa forma, atualmente, tramita na justiça brasileira o Projeto de Lei nº 399/2015, o qual pretende autorizar as associações sem fins lucrativos para cultivar, processar e elaborar produtos magistrais à base de *Cannabis sativa*, o que, de certa forma, facilitaria o acesso do paciente ao medicamento⁷⁰.

Outra forma de acesso aos produtos à base de *Cannabis sp.* de forma viável e com menores custos é através do autocultivo. Para tanto, o paciente pode impetrar um *Habeas Corpus* para obter a autorização legal para o cultivo e produção de seu medicamento, o que garante a sua proteção contra o enquadramento à Lei nº 11.343/2006, denominada lei antidrogas. Entretanto, muitos pacientes não possuem condição financeira e social para entrar judicialmente para garantir o seu direito ao medicamento e à saúde, outros possuem seus *Habeas Corpus* negados pelo Poder Judiciário e, assim, permanecem cultivando a *Cannabis sp.* de forma ilegal, estando expostos à tipificação penal e sujeitos às penas de direito⁹.

Ademais, diante de toda essa discussão acerca do acesso ao medicamento à base de *Cannabis sativa*, é importante promover a qualidade do processo de cultivo e produção do medicamento, inclusive com a padronização de técnicas, titulação das substâncias presentes na planta e a garantia de um produto livre de contaminação, a fim de atender às necessidades dos pacientes e promover um maior cuidado à sua saúde ⁷¹.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a segurança microbiológica e quantificar o índice de THC e CBD a partir do extrato de *Cannabis* produzidos artesanalmente em várias regiões do Brasil e obtidos a partir de associações de pacientes e pacientes que fazem uso medicinal desta espécie.

2.2 Objetivos Específicos

- Quantificar CBD e THC nos extratos artesanais por CLAE;
- Identificar os micro-organismos presentes nos extratos;
- Estabelecer controle de qualidade dos extratos de *Cannabis* obtidos de associações brasileiras e/ou pacientes.

3 METODOLOGIA

3.1 TIPO DE ESTUDO

Esta pesquisa é caracterizada como um estudo de natureza quantitativa, caracterizada como um estudo analítico.

3.2 MATERIAL E EQUIPAMENTOS

Os materiais e equipamentos utilizados serão listados a seguir, com seus respectivos fabricantes e locais de origem.

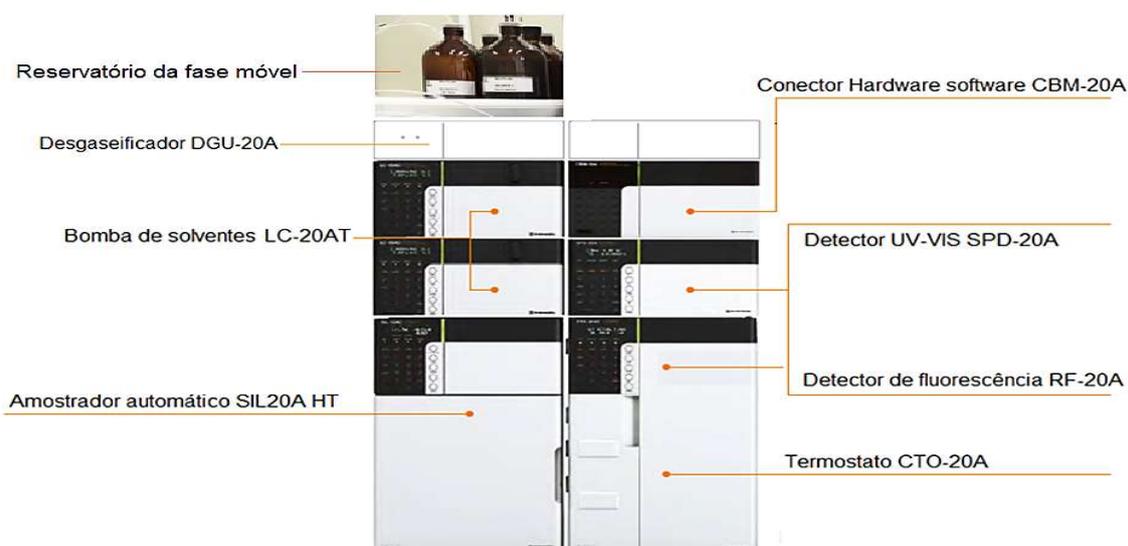


Figura 6: Modelo de HPLC Prominence da marca Shimadzu.

Fonte: Elaboração própria.

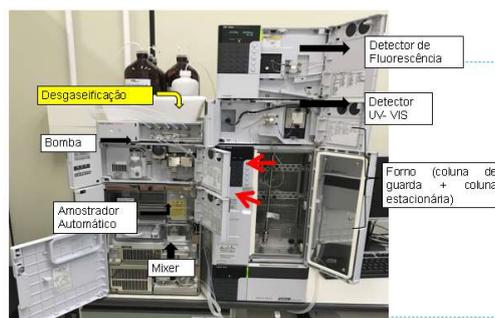


Figura 7: parte interna do analisador HPLC. **Fonte:** Elaboração própria.

3.3 AMOSTRAS

Os extratos oleosos de *Cannabis sp.* (n=41) foram fornecidos por familiares de pacientes e associações que prepararam seu próprio extrato com flores de *Cannabis* cultivadas em casa, no qual as preparações não foram assistidas pela UNESC/UNISUL. Após a coleta, serão encaminhadas as amostras para o laboratório MULTILAB para verificação da qualidade microbiológica e quantificação química.



Figura 8: Amostras das associações e/ou pacientes. **Fonte:** Elaboração própria.

3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Não foram dosadas amostras que estiverem com aspecto viscoso, isto é, outros tipos de excipientes não foram analisados a fim de não ter mudança nas características físico-química e microbiológica das amostras.

3.5 DELINEAMENTO DO ESTUDO

As amostras foram alíquotadas 100 mg para amostras em veículo oleoso e foram transferidas para tubos de polipropileno e adicionados 10 mL do solvente metanol:n-hexano (9:1 v/v) contendo padrão interno na concentração de 0,005 mg mL⁻¹. As amostras foram homogeneizadas a 2000 rpm por 1 min e submetidas ao banho de ultrassom (US) por 30 min. As amostras em veículo oleoso foram refrigeradas a -20°C por 30 min e centrifugadas a 4000 rpm por 20 min. As amostras de resinas diluídas e homogeneizadas por US e os sobrenadantes das amostras centrifugadas serão filtrados em membrana PTFE de 0,22 µm e transferidos para vials de HPLC e adotada a diluição apropriada de acordo com o perfil cromatográfico, por exemplo, para os extratos em torno de 50 mg mL⁻¹, o fator de diluição final foi de 200 vezes ⁷¹



Figura 9: Desenho experimental. **Fonte:** Elaboração própria.

3.6 ENSAIOS/TESTES/TÉCNICA

3.6.1 Quantificação dos Canabinoides

A análise realizada neste trabalho foi adaptada de De Backer ⁷¹. Foi utilizado o equipamento sistema HPLC Prominence da marca Shimadzu, detector UV-VIS SPD-20A, coluna analítica Ascentis® C18 (250 mm x 2,1 mm 5 µm; Supelco®, USA) figura 8. Fase móvel água ultrapurificada Milli-Q (A); metanol grau CLAE (B). O ajuste inicial será de 68% de metanol (v/v), que será aumentado de forma linear até atingir 90,5% de metanol ao longo de 35 minutos, depois aumentado para 95% em 1 minuto. Após três minutos, a coluna será ajustada para a condição inicial e reequilibrada sob essa condição durante dezesseis minutos. O tempo total de execução será de 56 minutos. A taxa de fluxo será ajustada para 0,3 mL/min, o volume de injeção utilizado será de 30 µL. Todas as análises foram realizadas à temperatura de 30 °C.

A linearidade do método foi avaliada por meio da construção de curva padrão da substância CBD e THC 98%. Os padrões foram adquiridos pela Sigma-Aldrich, CAS 546141-08-6 CBD e 362044-74-4 THC de volumes injetados de 20 µL, 16 µL, 12 µL, 8 µL e 4 µL, com a obtenção de um coeficiente de correlação linear (r^2) igual a 0,999. Segundo a ANVISA (69), o coeficiente de correlação linear deve ser igual ou superior a 0,99. Sendo assim, o valor de r^2 obtido na validação da construção da curva padrão obedece aos limites estabelecidos⁷¹.

O intervalo de trabalho (concentração na alíquota de análise de 4 µL a 20µL) possibilitará detectar THC e o CBD em todas essas concentrações, sendo identificadas através do tempo de retenção (t_R), com a resposta do detector UV.

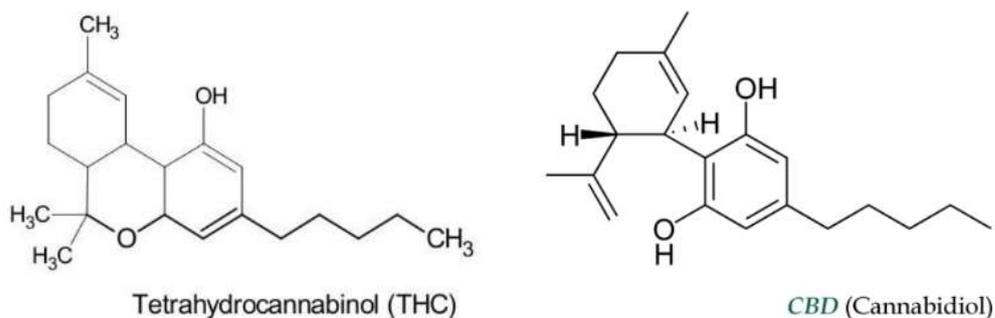


Figura 10: Padrões adquiridos pela Sigma-Aldrich THC e CBD (fórmula estrutural, respectivamente, $C_{21}H_{30}O_2$ PM= 314,45g/mol, $C_{21}H_{26}O_2$ PM = 310,42g/mol).

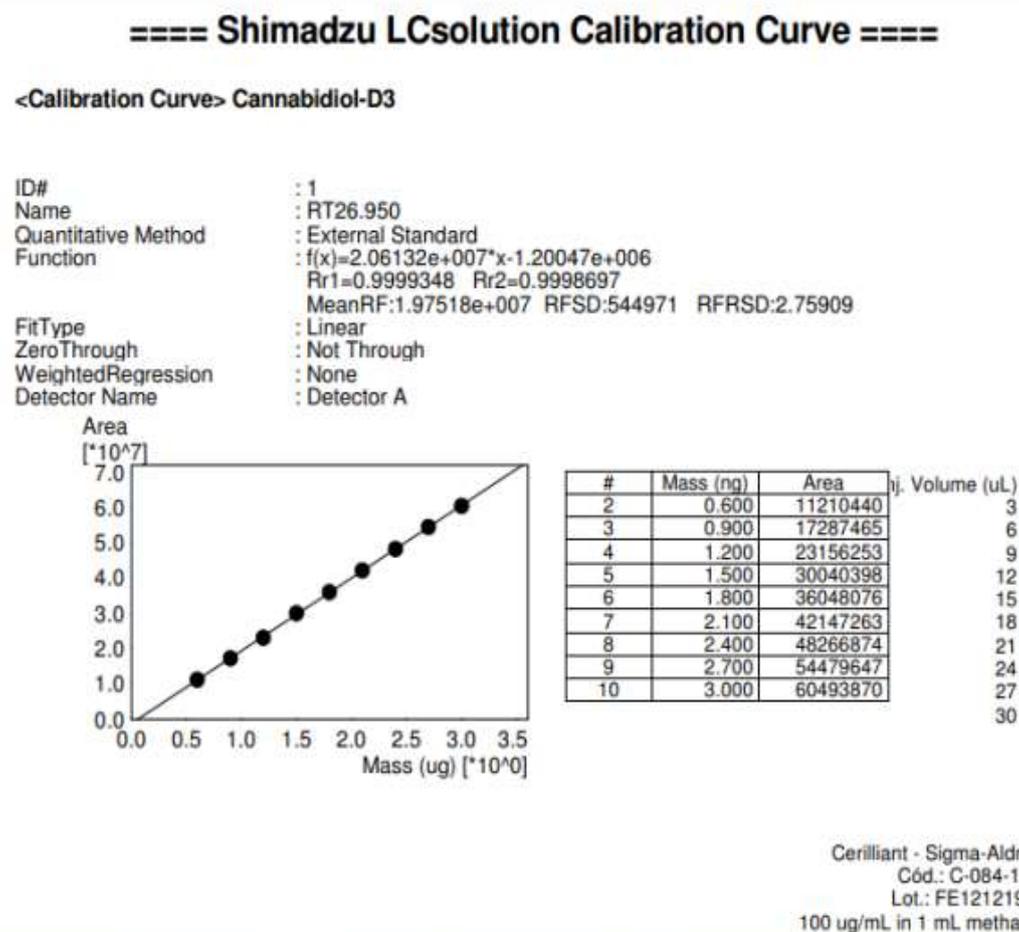
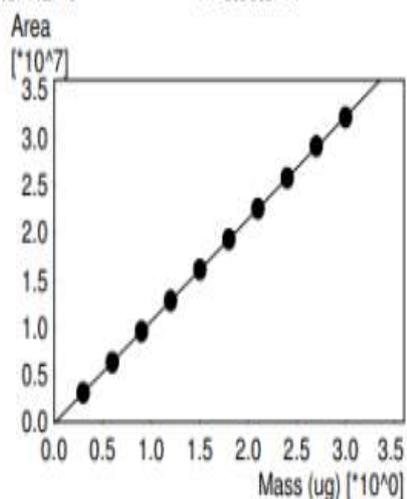


Figura 11: Calibração do CBD. Fonte: elaboração própria

==== Shimadzu LCsolution Calibration Curve ====

<Calibration Curve> delta9-THC-D3

ID# : 1
 Name : RT39.290
 Quantitative Method : External Standard
 Function : $f(x)=1.07722e+007*x-148534$
 Rr1=0.9999878 Rr2=0.9999756
 MeanRF:1.06233e+007 RFS:148401 RFRSD:1.39694
 FitType : Linear
 ZeroThrough : Not Through
 WeightedRegression : None
 Detector Name : Detector A



#	Mass (ug)	Area	Volume (uL)
1	0.300	3080139	3
2	0.600	6280121	6
3	0.900	9539791	9
4	1.200	12782542	12
5	1.500	16064407	15
6	1.800	19242590	18
7	2.100	22467708	21
8	2.400	25688484	24
9	2.700	29029720	27
10	3.000	32079904	30

Supelco, Código T-003-1ML
 100 ug/mL in 1 mL methanol
 Lot: FE05272003

Figura 12: Curva de calibração THC. Fonte: elaboração própria

3.6.2 Análise Microbiológica

Protocolo de Preparo dos AGAR

Mueller Hinton AGAR \

- Marca: Kasvi – CAT: K25-1085
- Lote: 112091
- Validade: 2024/12

Para o preparo do Mueller Hinton Agar (MH) foi pesado 38 gramas do meio MH e diluído em 1 litro de água destilada. Deve-se agitar e aquecer a solução para dissolver completamente, para isso ferver a solução por 1 minuto ou até dissolver por completo. É necessário esterilizar a solução de agar em autoclave a 121 °C por 15 minutos. Após esse processo deve-se resfriar o agar entre 45 °C a 50 °C e então despejar o agar nas Placas de Petri descartáveis. Armazena-las entre 2 °C a 8 °C.

Agar Sangue

- Marca: Kasvi – CAT: K25-1085
- Lote: 112091
- Validade: 2024/12

Para o preparo do Agar Sangue, foi pesado 38 gramas do meio Mueller Hinton Agar (MH) e diluído em 1 litro de água destilada. Deve-se agitar e aquecer a solução para dissolver completamente, para isso ferver a solução por 1 minuto ou até dissolver por completo. É necessário esterilizar a solução de agar em autoclave a 121 °C por 15 minutos. Após esse processo deve-se resfriar o agar entre 45 °C a 50 °C. Em seguida, adiciona 5% de eritrócitos sanguíneos O negativo e agita até ficar homogêneo e então despeja o agar nas Placas de Petri descartáveis. Armazena-las entre 2 °C a 8 °C.

Técnica de Semeadura

As amostras foram semeadas em Agar Sangue e em Agar Muller Hinton com o auxílio de swab estéril. As amostras foram semeadas diretamente dos fracos, sem a necessidade de diluições. Foi realizado uma estria central, seguido de estrias de esgotamento, como representado na imagem.

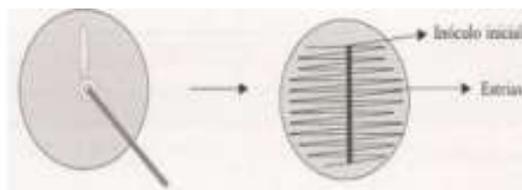


Figura 13: técnica de semeadura. **Fonte:** Elaboração própria.

As amostras semeadas foram incubadas por 24 horas em estufa bacteriológica a 37 °C. Após esse período foi analisado a presença ou ausência de crescimento bacteriano nos agar. Nas amostras que apresentaram crescimento bacteriano, foi realizado a identificação através da técnica de gram.

Coloração de Gram

- Marca: LaborClin
- Lote: 20097
- Validade: 18/04/2023

Em uma lâmina limpa e desengordurada foi colocado uma gota de água estéril, em seguida foi pego, com o auxílio de uma alça bacteriológica, uma colônia bacteriana. A colônia bacteriana foi emulsionada na água estéril, e então foi deixado secar ao ar e o material foi fixado na lâmina na chama de um bico de Bunsen. Após o preparo da lâmina, foi realizado a coloração pelo método de Gram: 1) Cobrir o material com a solução de violeta genciana e deixar atuar por um minuto; 2) Lavar em água corrente; 3) Cobrir a lâmina com o lugol fraco e deixar atuar um minuto; 4) Remover o lugol da lâmina gotejando a solução descolorante até que o líquido se torne incolor (em torno de 15 segundos); 5) Lavar em água corrente; 6) Cobrir a lâmina com a solução de Fucsina, deixando atuar por 30 segundos; 7) Lavar com água corrente, deixar secar na posição vertical e observar ao microscópio usando a objetiva de imersão (100x de aumento total).

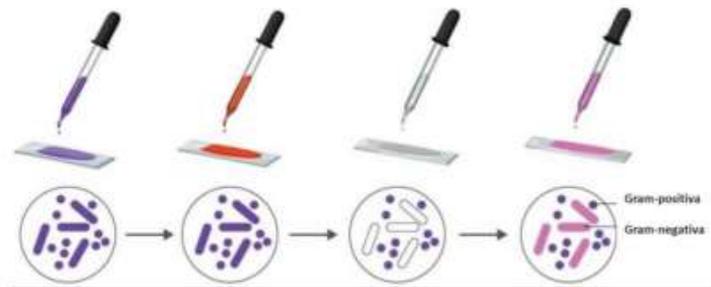


Figura 14: técnica da coloração de Gram. Fonte: Elaboração própria.

3.7 VARIÁVEIS DE ESTUDO

Quadro 1 – Variáveis de estudo.

Variáveis	Tipo	Natureza	Proposta de utilização
Extratos artesanais contendo extrato de <i>Cannabis</i>	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	Sim, não
Quantificação por CLAE de THC	Dependente	Quantitativa contínua	mg/mL
Quantificação por CLAE de CBD	Dependente	Quantitativa contínua	mg/mL
Análise de detecção de bactérias	Dependente	Quantitativa nominal Dicotômica	Presença e ausência
Análise de qualificação de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.	Dependente	Qualitativa nominal dicotômica	Gram-positiva Gram-negativa

3.8 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Os resultados de HPLC são apresentados conforme a análise de cada uma das amostras e também por média e desvio padrão. Para as análises microbiológicas os resultados são apresentados em presença e ausência de microrganismos.

3.9 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

Este projeto não foi enviado para a Comissão de Ética, pois envolve apenas procedimentos analíticos.

4 ARTIGO

A seguir está inserido o artigo científico fruto dessa dissertação de Mestrado, que será submetido para a revista científica *Pan American Journal of Public Health*, com fator de impacto 2.8. As normas da revista científica estão disponíveis para a consulta *on-line* por meio do endereço eletrônico: https://www.paho.org/journal/sites/default/files/2021-09/Instrucoes%20aos%20autores_PT_210915.pdf?ua=1

**QUANTIFICAÇÃO QUÍMICA DE CBD E THC E ANÁLISE
BACTERIOLÓGICA DE EXTRATOS ARTESANAIS DE *CANNABIS Sativa*: A
IMPORTÂNCIA DA REGULAMENTAÇÃO**

Linério Ribeiro de Novais Júnior¹, Pâmela Aparecida da Costa², Larissa Mendes da Silva³, Rahíssa Scussel⁴, Ellen De Pieri⁵, Kelser de Souza Kock⁶, Patrícia de Aguiar Amaral⁷, Flávia Karine Rigo⁸, Rafael Mariano de Bitencourt⁹

1. Acadêmico do Curso de Medicina da Universidade do Sul de Santa Catarina – UNISUL. Tubarão-SC, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-4682-8853>
2. Farmacêutica, Mestranda em Ciências da Saúde, Universidade do Sul de Santa Catarina – UNISUL. Florianópolis-SC, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-0580-5284>
3. Acadêmica do Curso de Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. Florianópolis-SC, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-4001-9956>
4. Engenheira Ambiental, Doutoranda no Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde PPGS/Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, Criciúma-SC. Orcid:<https://orcid.org/0000-0002-0931-604X>
5. Farmacêutica, Mestranda no Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde PPGS/ Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, Criciúma-SC. Orcid:<https://orcid.org/0000-0002-2449-1225>
6. Doutor em Ciências Médicas, Professor vinculado ao Curso de Medicina, Universidade do Sul de Santa Catarina – UNISUL, Tubarão-SC, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-0117-6142>
7. Doutora em Ciências Farmacêuticas, Professora vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, Criciúma-SC. Orcid:<https://orcid.org/0000-0002-3109-9002>
8. Doutora em Farmacologia, Professora vinculada ao Curso de Farmácia, Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, Criciúma-SC. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-2976-8841>
9. Doutor em Farmacologia, Professor vinculado ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Sul de Santa Catarina – UNISUL, Coordenador do Laboratório de Neurociência Comportamental (LabNeC), Tubarão-SC, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-4694-3808>

RESUMO

Objetivos: A *Cannabis sativa* é uma espécie vegetal utilizada há milênios, especialmente na forma medicinal, devido ao seu grande potencial terapêutico. O tetraidrocanabinol (THC) e o canabidiol (CBD) são as principais substâncias farmacologicamente ativas encontradas na planta. Métodos eficientes de extração, purificação e, por vezes, a separação desses canabinoides são necessários para a obtenção de extratos e compostos que possam ser utilizados na busca de respostas terapêuticas seguras e eficazes. **Métodos:** Neste trabalho foi possível realizar a análise da composição de canabinoides em 41 extratos de *Cannabis sp.* (32 produzidos por associações e 9 produzidos pelos próprios pacientes), determinando a quantidade de THC e CBD nas amostras, através da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/HPLC), bem como a presença de bactérias, pelo método Gram. **Resultados:** As medianas das concentrações de THC e CBD dosados nas amostras foram de 51% e 58%, menores em relação à concentração esperada, respectivamente. Ademais, observou-se a presença de microrganismo Gram positivo em apenas uma amostra, sugestivo de *Staphylococcus Aureus*. **Conclusão:** Embora as associações apresentem uma nobre função social, é importante o controle de qualidade na produção dos medicamentos, com a devida titulação de canabinoides e a análise microbiológica das amostras, o que pode ser efetivado através da regulamentação, por parte do Poder Público.

Palavras-chave: Canabidiol; *Cannabis sativa*; Canabinoides; HPLC; THC.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a *Cannabis sp.* tem sido utilizada de forma medicinal para diversos fins, como dores crônicas e enfermidades neurológicas. Segundo estudos, o controle de crises convulsivas em pacientes que apresentam epilepsia refratária é o uso terapêutico de maior prevalência e eficácia desta planta. Os efeitos farmacológicos dependem da dose e da interação entre os componentes da planta (canabinoides, terpenos e flavonoides), o que é chamado de efeito *entourage*, ou efeito comitiva. Para a epilepsia refratária, o uso extratos oleosos com teores de canabidiol (CBD) maiores que tetrahydrocanabidiol (THC), dois dos principais fitocannabinoides encontrados nesta planta, é o mais indicado ^(3,4).

Achados arqueológicos demonstram que a *Cannabis sp* já existe há milênios. Registros do pólen da planta foram encontrados no noroeste da China e datam de 19,6 milhões de anos atrás. O fóssil mais antigo, encontrado no Japão, data de, aproximadamente, 10 mil anos antes de Cristo (a.C) ⁽¹⁾. A *Cannabis* se espalhou pela Eurásia e, graças ao processo de domesticação, atingiu diversas regiões do mundo. O seu uso sempre esteve associado à alimentação, à religião e à saúde ⁽²⁾.

O CBD e o THC são duas das diversas substâncias químicas que já foram isoladas da *Cannabis sp.* e são as principais moléculas responsáveis pelas propriedades terapêuticas, devido à interação com os receptores endocannabinoides CB1, distribuídos no Sistema Nervoso Central, e CB2, presentes em maior quantidade no Sistema Nervoso Periférico ⁽⁵⁻⁷⁾. Os receptores endocannabinoides reconhecem os canabinoides encontrados na planta, interagem com eles e, assim, proporcionam benefícios terapêuticos, com poder anticonvulsivante, analgésico, antiemético e outros ⁽⁸⁾.

A via de administração mais comum do extrato oleoso de *Cannabis sp.* é a via sublingual ⁽⁹⁾. Tais óleos são produzidos por empresas farmacêuticas, associações de pacientes e pelos próprios pacientes. Atualmente, não há, no Brasil, regulamentação para a devida padronização desses extratos. Desta forma, é importante investigar a qualidade do processo de cultivo e produção do medicamento, visando averiguar a utilização de técnicas apropriadas, a titulação das substâncias presentes na planta e a garantia de um produto livre de contaminação, atendendo, assim, às necessidades dos pacientes. Diante do

presente contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a segurança microbiológica e quantificar o índice de THC e CBD a partir de extratos de *Cannabis sp.* produzidos artesanalmente por pacientes e associações de várias regiões do Brasil.

MÉTODOS

Materiais e reagentes

As amostras foram obtidas pelo LabNeC (Laboratório de Neurociência Comportamental) da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL) e as análises foram realizadas em parceria com o MULTILAB (Laboratório Multiusuário do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde) da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC).

Materiais de referência certificados foram usados como padrão para o método de quantificação química de THC e CBD. Os padrões utilizados foram obtidos nas concentrações de 1 mg mL⁻¹ (Sigma-Aldrich®). O equipamento utilizado foi CLAE/HPLC, sendo a coluna utilizada a Ascentis® C18 (25 cm x 2.1 mm 5 µm; Supelco®, USA). A temperatura na unidade CTO-20A foi de 30°C e a composição da fase móvel utilizada foi: (i) metanol grau HPLC; (ii) água ultrapurificada Milli-Q. Para as análises bacteriológicas foram preparadas as placas de Mueller Hinton e Agar Sangue. As amostras positivas no plaqueamento com Agar Sangue e Mullher foram analisadas através da coloração de gram.

Amostragem e preparação das amostras

Extratos medicinais de *Cannabis sp.* (n=41) foram doados de forma voluntária por associações de pacientes ou pacientes com cultivo próprio no período de fevereiro de 2020 a dezembro de 2020. Todos os extratos foram produzidos no Brasil através da extração etanólica de flores e/ou folhas e talos de plantas de *Cannabis sp.*, com posterior evaporação do solvente. A amostra se apresenta na forma de uma pasta escura de alta viscosidade, podendo conter partículas insolúveis, assumindo colorações que variam entre o amarelo claro a um verde intenso. Devido à imprecisão quanto à forma de preparo e material vegetal de origem de cada amostra não foi possível definir a causa, mas

associando os relatos fornecidos pelos doadores de amostras, fatores como presença de folhas e tempo de exposição ao solvente podem colaborar para que o extrato final assuma colorações diferentes.

Alíquotas de 100 mg para amostras em veículo oleoso e 20 mg para amostras de resinas (IFAVs) foram transferidas para tubos de polipropileno e adicionados 10 mL do solvente metanol:n-hexano (9:1 v/v) contendo padrão interno na concentração de 0,005 mg mL⁻¹. As amostras foram homogeneizadas a 2000 rpm por 1 min e submetidas ao banho de ultrassom (US) por 30 min. As amostras em veículo oleoso foram refrigeradas a -20°C por 30 min e centrifugadas a 4000 rpm por 20 min. As amostras de resinas diluídas e homogeneizadas por US e os sobrenadantes das amostras centrifugadas foram filtrados em membrana PTFE de 0,22 µm e transferidos para vials de CLAE/HPLC e adotada a diluição apropriada de acordo com o perfil cromatográfico. Por exemplo, para os extratos em torno de 50 mg mL⁻¹, o fator de diluição final foi de 200 vezes.

Para uma avaliação e determinação dos canabinoides, a CLAE/HPLC atende perfeitamente por não requerer aquecimento para sua operação. As análises são realizadas a temperaturas próximas a do ambiente, sem alterar a estrutura molecular das substâncias ⁽¹⁰⁾.

Condições cromatográficas

O Equipamento de CLAE/HPLC foi acoplado ao detector de arranjo de diodos (Thermo®), dotado de bomba quaternária Rheos 5600, automostrador Accela e detector PDA Accela de 20 Hz. O método foi desenvolvido em coluna cromatográfica, marca ACE, dimensões 250 x 4,6 mm e partículas de 5 µm em temperatura constante de 30°C. Os analitos foram eluídos no modo gradiente, conforme tabela 1, empregando como solvente A o tampão formiato de amônio, 50 mM, pH 5,19, e solvente B metanol nas seguintes condições: 0-10 min de 32 a 15% de A; 10 a 20 min de 15 a 8% de A; 20 a 22 min de 8 a 5% de A, 22 a 25 min 5% de A; 25 a 30 min retornou-se à condição inicial de 32% de A. O fluxo foi de 1,0 mL/min e a injeção de 10 µL. A detecção foi realizada em comprimento de onda de 240 nm. Os canabinoides foram identificados por seus espectros em comparação com os padrões de referência e pelos tempos de retenção. Os

ensaios foram realizados empregando soluções padrão de CBD e THC puras (Sigma-Aldrich Brasil Ltda, Merck, Germany).

Análises estatísticas

As variáveis são apresentadas em média, \pm desvio padrão (DP), número e frequência. A análise estatística foi realizada através do programa estatístico SPSS 21.0. Os dados foram avaliados pela ANOVA de uma via, seguido pelo *post hoc* de Dunnet e/ou Tukey (dados paramétricos) e teste de Kruskal-Wallis, seguidos de pós-testes de Dunns (dados não-paramétricos).

RESULTADOS

Foram analisados 41 extratos oleosos de *Cannabis sp.*, 32 provenientes de associações brasileiras de *Cannabis* medicinal e nove extratos produzidos pelos próprios pacientes. A tabela 1 apresenta a especificação quanto à posologia esperada dos produtos (% , mg/ml), conforme informado pela associação/paciente, e os teores de CBD e THC reais presentes nas amostras, quantificados através do método CLAE/HPLC. É possível observar que há um maior número de extratos ricos em THC, 24 amostras, sete amostras de extratos ricos em THC/CBD e 10 amostras de extratos ricos em CBD.

Tabela 1: Concentração de CBD e THC por amostra analisada

#	Origem	Característica	THC Esperado (mg/ml)	THC Dosado (mg/ml)	CBD Esperado (mg/ml)	CBD Dosado (mg/ml)
1	Associação	Rico em THC	10	1,2	-	0,61
2	Associação	Rico em THC	10	17,7	-	0,46
3	Associação	Rico em THC	10	86,5	-	0,55
4	Associação	Rico em THC	10	4	-	1,47
5	Associação	Rico em THC	10	4,6	-	2,14
6	Associação	Rico em THC	20	7,4	-	0,62
7	Associação	Rico em THC	20	10,8	-	0,36
8	Associação	Rico em THC	25	15,7	-	0,83
9	Associação	Rico em THC	40	34,2	-	0,81
10	Associação	Rico em THC	50	198,8	-	0,39
11	Associação	Rico em THC	50	14,3	-	1,84
12	Associação	Rico em THC	50	126,8	-	0,46
13	Associação	Rico em THC	70	116,7	-	3,71
14	Associação	Rico em THC	100	53,3	-	9,98
15	Associação	Rico em THC	100	103,8	-	1,95
16	Associação	Rico em THC	100	140,2	-	0,33
17	Associação	Rico em CBD	-	0,46	10	8,1
18	Associação	Rico em CBD	-	8,65	10	3,9
19	Associação	Rico em CBD	-	0,74	20	19,5
20	Associação	Rico em CBD	-	1,08	40	21,5
21	Associação	Rico em CBD	-	1,57	50	36,8
22	Associação	Rico em CBD	-	1,38	50	66,2
23	Associação	Rico em CBD	-	19,88	100	4,6
24	Associação	Rico em CBD	-	17,8	100	NM*
25	Associação	Rico em CBD	-	3,42	100	3,3

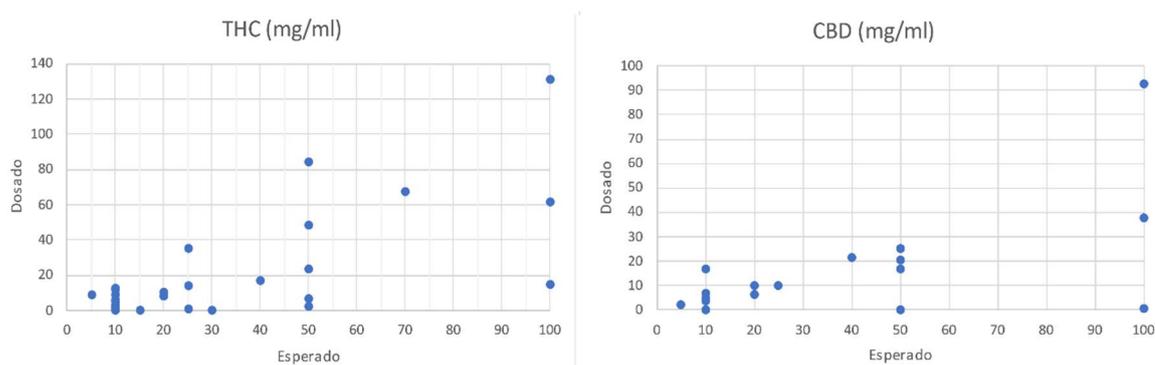
26	Associação	Rico em THC/CBD	5	8,49	5	2,15
27	Associação	Rico em THC/CBD	10	4,99	10	3,68
28	Associação	Rico em THC/CBD	10	12,67	10	4,99
29	Associação	Rico em THC/CBD	20	8,34	20	6,62
30	Associação	Rico em THC/CBD	25	35,07	25	10,14
31	Associação	Rico em THC/CBD	50	83,9	50	20,83
32	Associação	Rico em THC/CBD	50	23,71	50	17,01
33	Paciente	Rico em THC	10	3,01	-	0,31
34	Paciente	Rico em THC	10	1,43	-	0,46
35	Paciente	Rico em THC	10	0,87	-	0,21
36	Paciente	Rico em THC	10	6,02	-	0,38
37	Paciente	Rico em THC	10	1,68	-	0,21
38	Paciente	Rico em THC	15	0,41	-	0
39	Paciente	Rico em THC	25	0,84	-	0,21
40	Paciente	Rico em THC	30	0,35	-	0,2
41	Paciente	Rico em CBD	-	1,77	10	16,87

*Não Mensurável

Fonte: elaborado pelo autor

Ao analisar os extratos separadamente, conforme o canabinoide presente, a proporção de THC e CBD dosado e esperado está presente no gráfico 1.

Gráfico 1: Concentração de THC e CBD dosado e esperado



Fonte: elaborado pelo autor

Os extratos ricos em THC apresentaram uma mediana de 51% de concentração de THC menor em relação aos valores esperados. Já os extratos ricos em CBD, apresentaram mediana de 58% de concentração de CBD menor do que o esperado.

Na tabela 2, encontra-se a diferença absoluta e relativa de THC e CBD dos extratos. Apenas dois extratos ricos em THC apresentaram um valor dosado maior que o valor esperado, os demais apresentaram uma diferença absoluta e relativa de THC abaixo do esperado. Apenas um extrato rico em CBD apresentou um valor dosado maior que o valor esperado, os demais apresentaram uma diferença absoluta e relativa de CBD abaixo do esperado. Já nos extratos ricos em THC/CBD, quatro extratos apresentaram um valor dosado de THC maior que o valor esperado, os demais apresentaram uma diferença absoluta e relativa de THC abaixo do esperado.

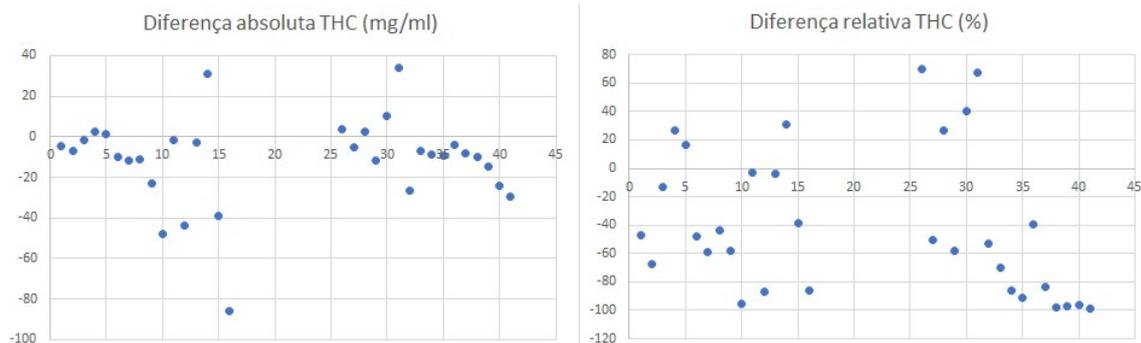
Tabela 2: Diferença absoluta e relativa de THC e CBD entre as amostras analisadas

#	Origem	Característica	Diferença Absoluta THC (mg/ml)	Diferença Relativa THC (%)	Diferença Absoluta CBD (mg/ml)	Diferença Relativa CBD (%)
1	Associação	Rico em THC	-4,67	-46,70	-	-
2	Associação	Rico em THC	-6,75	-67,50	-	-
3	Associação	Rico em THC	-1,28	-12,80	-	-
4	Associação	Rico em THC	2,68	26,80	-	-
5	Associação	Rico em THC	1,67	16,70	-	-
6	Associação	Rico em THC	-9,62	-48,10	-	-
7	Associação	Rico em THC	-11,83	-59,15	-	-
8	Associação	Rico em THC	-10,98	-43,92	-	-
9	Associação	Rico em THC	-23,19	-57,98	-	-
10	Associação	Rico em THC	-47,78	-95,56	-	-
11	Associação	Rico em THC	-1,55	-3,10	-	-
12	Associação	Rico em THC	-43,56	-87,12	-	-
13	Associação	Rico em THC	-2,65	-3,79	-	-
14	Associação	Rico em THC	30,87	30,87	-	-
15	Associação	Rico em THC	-38,8	-38,80	-	-
16	Associação	Rico em THC	-85,66	-85,66	-	-
17	Paciente	Rico em THC	-6,99	-69,90	-	-
18	Paciente	Rico em THC	-8,57	-85,70	-	-
19	Paciente	Rico em THC	-9,13	-91,30	-	-
20	Paciente	Rico em THC	-3,98	-39,80	-	-
21	Paciente	Rico em THC	-8,32	-83,20	-	-
22	Paciente	Rico em THC	-14,59	-97,27	-	-
23	Paciente	Rico em THC	-24,16	-96,64	-	-
24	Paciente	Rico em THC	-29,65	-98,83	-	-
25	Associação	Rico em CBD	-	-	-3,00	-30,00
26	Associação	Rico em CBD	-	-	-9,66	-96,60
27	Associação	Rico em CBD	-	-	-9,90	-49,50
28	Associação	Rico em CBD	-	-	-18,45	-46,13
29	Associação	Rico em CBD	-	-	-49,78	-99,56
30	Associação	Rico em CBD	-	-	-24,58	-49,16
31	Associação	Rico em CBD	-	-	-99,30	-99,30
32	Associação	Rico em CBD	-	-	-7,03	-7,03
33	Associação	Rico em CBD	-	-	-61,88	-61,88
34	Paciente	Rico em CBD	-	-	6,87	68,7
35	Associação	Rico em THC/CBD	3,49	69,8	-2,85	-57
36	Associação	Rico em THC/CBD	-5,01	-50,1	-6,32	-63,2
37	Associação	Rico em THC/CBD	2,67	26,7	-5,01	-50,1
38	Associação	Rico em THC/CBD	-11,66	-58,3	-13,38	-66,9
39	Associação	Rico em THC/CBD	10,07	40,28	-14,86	-59,44
40	Associação	Rico em THC/CBD	33,9	67,8	-29,17	-58,34
41	Associação	Rico em THC/CBD	-26,29	-52,58	-32,99	-65,98

Fonte: elaborado pelo autor

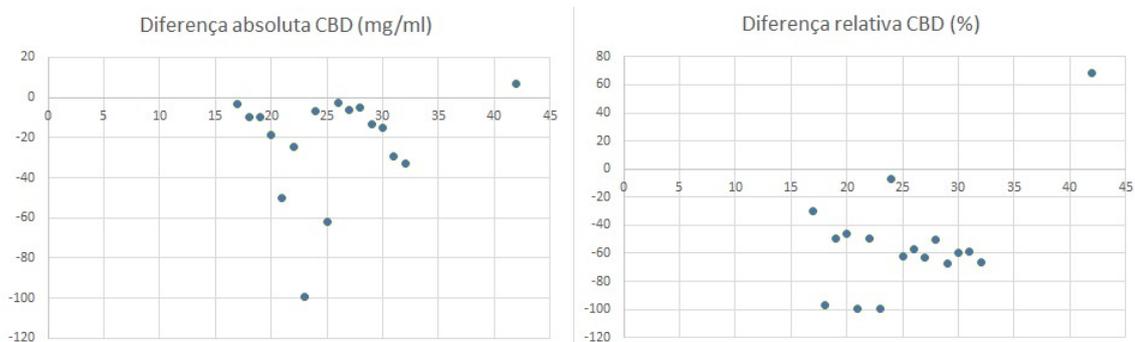
Nos gráficos 2 e 3 é possível observar a diferença absoluta e relativa de THC e CBD nas amostras, respectivamente. Ademais, ao realizar o teste de Mann-Whitney e analisar a distribuição da diferença relativa de THC em relação à forma de produção do extrato, via associação ou paciente, houve diferença estatística significativa ($p < 0,005$), com menores diferenças relativas de THC nos extratos provenientes das associações.

Gráfico 2: Diferença absoluta e relativa do THC nas amostras



Fonte: elaborado pelo autor

Gráfico 3: Diferença absoluta e relativa do CBD nas amostras analisadas



Fonte: elaborado pelo autor

Em relação à presença de micro-organismos, observou-se a presença de crescimento bacteriano no *Ágar Muller Hinton* (amarelo) e no *Ágar Sangue* (vermelho), após 24 horas de incubação da amostra 7, rico em THC. A análise do resultado da coloração de Gram da amostra 07 demonstrou a presença de uma bactéria Gram positiva, com características de colônia compatíveis com *Staphylococcus aureus*.

\

DISCUSSÃO

Neste trabalho foi possível realizar a análise da composição de canabinoides em 41 extratos de *Cannabis sp.* (32 produzidos por associações e 9 produzidos pelos próprios pacientes), determinando a quantidade de THC e CBD nas amostras, as quais apresentaram mediana de 51% e 58% de concentração menor em relação aos valores esperados, respectivamente. Ademais, observou-se a presença de microrganismo Gram positivo em apenas uma amostra, sugestivo de *Staphylococcus Aureus*.

Um estudo argentino publicado recentemente, em 2022, analisou a composição dos extratos artesanais de *Cannabis sp.* e revelou que a concentração de canabinoides encontrada era menor do que a esperada, especialmente de CBD e, inclusive, em alguns extratos, não foi constatado a presença de nenhum canabinoide ⁽¹¹⁾. Outros dois estudos, um brasileiro e um norte-americano, compararam a quantidade de canabinoides em extratos artesanais e em extratos importados e observaram a menor concentração de canabinoides, especialmente de CBD nas amostras artesanais. Outro ponto relevante registrado foi a predominância de THC nos extratos artesanais, o que possivelmente está relacionado ao perfil de consumo, à falta de regulamentação e ao difícil acesso às plantas ricas em CBD ^(12,13).

Na mesma linha, um terceiro estudo, publicado neste ano de 2022, avaliou a variabilidade da concentração sanguínea de canabinoides em pacientes que faziam uso do extrato artesanal e do extrato importado. A concentração de CBD na corrente sanguínea dos participantes que utilizavam óleo artesanal foi menor do que a observada naqueles que utilizavam o medicamento importado ⁽¹⁴⁾. Todavia, segundo pesquisadores, os extratos artesanais apresentam efetividade e segurança, especialmente no tratamento de epilepsias refratárias, o que assegura a importância do acesso ao extrato artesanal como opção ao tratamento ^(15,16).

No presente estudo, também foi observado maiores concentrações de THC (menor diferença relativa) nos extratos provenientes das associações quando comparados com os extratos produzidos pelos próprios pacientes. Este fato possivelmente está associado à qualidade da matéria prima e à técnica de extração utilizada, o que elucida a necessidade da devida regulamentação e, por

consequente, instrução acerca dos métodos de produção de extrato de *Cannabis sp.* para pacientes, melhorando assim a qualidade dos medicamentos ^(17,18).

Ademais, ao relacionar a presença de bactérias nos extratos pelo método Gram, a presença em apenas uma amostra indicou uma baixa taxa de contaminação, dado este que vai ao oposto dos resultados encontrados pela Fundação Oswaldo Cruz, o qual avaliou alguns extratos artesanais e concluiu que 40% dos extratos estavam contaminados com alguma bactéria ou fungo (como: *Candida albicans*, *Bacillus mycoides*, *Aspergillus brasiliensis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*). É provável que a investigação apenas da presença de bactérias pelo método Gram tenha contribuído para os achados apresentados neste artigo, haja vista a grande variedade de microrganismos pesquisados no estudo em comparação ⁽¹⁹⁾.

Atualmente, no Brasil, existem diversos medicamentos à base de CBD e THC disponíveis nas drogarias, como, por exemplo: Canabidiol Prati Donaduzzi 200mg/ml e Mevatyl (THC 27mg/ml e CBD 25mg/ml), os quais são produtos que possuem um alto custo, em torno de R\$ 2.000 até R\$3.000 reais, o que dificulta o acesso ao tratamento por parte dos pacientes ⁽²⁰⁾. Por isso, a presença das associações e a produção artesanal dos óleos pelos usuários é crucial para que o medicamento seja acessível para a população. Existem três associações que podem produzir, de forma legal, o medicamento à base de *Cannabis sp.* no Brasil, a saber: ABRACE, Associação Brasileira de Apoio à Cannabis Esperança, a qual possui sua sede em João Pessoa (PB); a APEPI, Apoio e Pesquisa a Pacientes de Cannabis, na cidade do Rio de Janeiro (RJ); e a Cultive, na cidade de São Paulo (SP) ^(21,22-24). Além da produção e fornecimento do medicamento, as associações representam a maior plataforma de apoio aos pacientes e seus familiares, desempenhando um papel fundamental na articulação das demandas pelo acesso legal à Cannabis, proporcionando o contato entre pacientes, médicos e advogados. Prestam um serviço essencial, portanto, a todos que estão envolvidos e interessados nas potencialidades medicinais da planta ^(22,23).

Vale destacar que os extratos medicinais de *Cannabis sp.* são produzidos, especialmente, com as flores das espécimes pistiladas (fêmeas) devido a maior concentração de canabinoides ⁽²⁵⁾. A extração da *Cannabis* é um processo muito antigo, utilizado para retirar da planta substâncias (canabinoides, terpenos e flavonoides) que podem ser utilizadas para diversos tratamentos. Os métodos

utilizados para extração podem variar e, é importante, evitar o uso de calor devido à sensibilidade dos canabinoides às altas temperaturas. Existem inúmeros métodos utilizados para a extração da *Cannabis*, como: método *Rosin*; extração por Butano; extração por CO₂ e, a mais utilizada artesanalmente, a extração por meio do álcool isopropílico, no qual as flores, previamente secas, são submersas no solvente, em um processo de saturação, e o extrato é filtrado e segue para o processo de destilação. A seguir, é adicionado um veículo oleoso (por exemplo, óleo de milho e triglicerídeo de cadeia média), com a devida titulação dos canabinoides ^(26,27).

Logo, fica evidente que é importante promover a qualidade do processo de cultivo e produção de medicamentos derivados da *Cannabis sp.*, inclusive com a padronização de técnicas, titulação das substâncias presentes na planta e a garantia de um produto livre de contaminação, com a devida regulamentação implementada, atendendo, assim, às necessidades dos pacientes e promovendo um maior cuidado à sua saúde ^(12,24).

Quanto às limitações deste estudo, vale ressaltar o baixo número de amostras de extratos artesanais analisadas, a não quantificação de outros canabinoides, terpenos e flavonoides e a ausência da análise do perfil micológico e de outras bactérias nas amostras. Não possuímos conflitos de interesse para a elaboração deste trabalho.

CONCLUSÃO

A análise das substâncias presentes em produtos à base de extratos de *Cannabis sp.* é essencial para que o tratamento de diversas condições clínicas seja efetivo e seguro. Logo, é indicado que os produtores de tais medicamentos realizem estudos capazes de quantificar os canabinoides, terpenos e flavonoides presentes no extrato extraído da planta, visando assim um controle de qualidade confiável e eficaz.

No Brasil, há uma carência em relação a pesquisas científicas relacionadas à dosificação de produtos derivados da *Cannabis sp.* e seus extratos. Para que tudo isso seja possível, é necessário que os agentes públicos responsáveis pela regulamentação facilitem o acesso às plantas para a pesquisa

científica, aumentando, então, o controle de qualidade de medicamentos produzidos por associações de *Cannabis* medicinal e pelos próprios pacientes.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores informam que não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

1. McPartland JM, Hegan W, Long T. Cannabis in Asia: its center of origin and early cultivation, based on a synthesis of subfossil pollen and archaeobotanical studies. *Vegetation History and Archaeobotany*. 2019;28:691-702.
2. Pisanti S, Bifulco M. Medical Cannabis: A plurimillennial history of an evergreen. *Journal of Cellular Physiology*. 2018; 234(6):8342-8351.
3. Bitencourt RM, Takahashi RN, Carlini EA. From an Alternative Medicine to a New Treatment for Refractory Epilepsies: Can Cannabidiol Follow the Same Path to Treat Neuropsychiatric Disorders? *Frontiers in Psychiatry*. 2021;12.
4. Costa PA, Júnior LRN, Silva LM, Bitencourt RM. CBD de espectro completo ou purificado: qual o melhor tratamento para epilepsia? *Revista Neurociência*. 2022;30:1-4.
5. Russo EB. Taming THC: potencial cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol*. 2011;163(7):1344.
6. Hill AJ, Williams CM, Whalley BJ, Stephens GJ. Phytocannabinoids as novel therapeutic agents in CNS disorders. *Pharmacol Ther*. 2012;133(1):79–97.
7. Salentijn EMJ, Zhang Q, Amaducci S, Yang M, Trindade LM. New developments in fiber hemp (*Cannabis sativa* L.) breeding. *Ind Crops Prod*. 1 de junho de 2015;68:32–41.
8. Zuardi AW, Crippa JAS, Hallak JEC. Cannabis sativa: A planta que pode produzir efeitos indesejáveis e também tratá-los. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2010;32:51–52.
9. MacCallum CA, Russo EB. Practical considerations in medical cannabis administration and dosing. *Eur J Intern Med*. 2018;49:12–19.
10. Peschel W, Politi M. H NMR HPLC/DAD for *Cannabis sativa* L. chemotype distinction, extract profiling and specification. *Talanta*. 2015;140:150–165.
11. Manzo PG, Martín S, Uema S, Charles G, Bruni FM, Montoya SN, et al. Characterization of the problem of the therapeutic use of Cannabis Oil in Córdoba, Argentina. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*. 2022; 79(2):123-131.
12. Carvalho VM, Aguiar AFL, Baratto LC, Souza FLC, Rocha ED. Quantificação de canabinoides em extratos medicinais de *cannabis* por cromatografia líquida de alta eficiência. *Quim Nova*. 2020;43(1):90–7.
13. Owen SM, Edmund JE, Karen JJ, Gidal BE. Analysis of cannabidiol (CBD) and THC in nonprescription consumer products: Implications for patients and practitioners. 2022;127
14. Nathan TC, Burak B., Joan C., et al. Variability in Serum Concentrations and Clinical Response in Artisanal Versus Pharmaceutical Cannabidiol Treatment of Pediatric Pharmacoresistant Epilepsy. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2022;27(6):558–563.
15. Tzadok M, Hamed N, Heimer G, Zohar-Dayana E, Rabinowicz S, Zeev BB. The Long-Term Effectiveness and Safety of Cannabidiol-Enriched Oil in Children With Drug-Resistant Epilepsy. *Pediatric Neurology*. 2022;136:15-19.
16. Dustin S, Russel S, Bonni G. The current status of artisanal cannabis for the treatment of epilepsy in the United States. 2017;70(b):328-333.
17. Figueiredo E. A Produção da Verdade Legal sobre a Cannabis no Brasil. Câmara de Deputados. 2019. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoestemporarias/especiais/56a-legislatura/pl-0399-15-medicamentos-formulados-comcannabis/documentos/audienciaspublicas/EmilioFigueiredoCamaraREFORMA_compactado.pdf>
18. Azevedo CF. O acesso legal à cannabis medicinal no Brasil: um direito fundamental. Florianópolis. Trabalho de Conclusão de Curso [Graduação em Direito] - Universidade Federal de Santa Catarina; 2020.
19. Carmo JS. Avaliação da qualidade microbiológica das flores e dos extratos medicinais de *Cannabis sativa*. / Juliana dos Santos Carmo. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2019. 46f. : il. ; fig. ; tab. Monografia (Programa de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

20. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 156, de 5 de maio de 2017. Dispõe sobre a alteração das Resoluções da Diretoria Colegiada - RDC nº 64/2012, nº 29/2013, nº 42/2014, nº 01/2015, nº 11/2015, nº 71/2016 e nº 104/2016, para a inclusão, alteração exclusão de Denominações Comuns Brasileiras - DCB, na lista completa das DCB da Anvisa. Diário Oficial da União. 2017. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/20198336/do1-2017-05-08-resolucao-rdc-n-156-de-5-de-maio-de-2017-20198229>.
21. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 660, de 31 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. 2022. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-660-de-30-de-marco-de-2022-389908959>>
22. Figueiredo E. A Produção da Verdade Legal sobre a Cannabis no Brasil. Câmara de Deputados. 2019. Disponível em: <<https://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoestemporarias/especiais/56a-legislatura/pl-0399-15-medicamentos-formulados-comcannabis/documentos/audienciaspublicas/EmilioFigueiredoCamaraREFORMAcompactado.pdf>>
23. Azevedo CF. O acesso legal à cannabis medicinal no Brasil: um direito fundamental. Florianópolis. Trabalho de Conclusão de Curso [Graduação em Direito] - Universidade Federal de Santa Catarina; 2020.
24. Consultor Jurídico - ConJur. Juíza concede HC coletivo para associação plantar maconha para fins medicinais. 2021. Disponível em: <<https://www.conjur.com.br/2021-fev-13/associacao-autorizada-plantar-maconha-fins-medicais>>
25. Lewis-Bakker MM, Yang Y, Vyawahare R, Kotra LP. Extractions of Medical Cannabis Cultivars and the Role of Decarboxylation in Optimal Receptor Responses. Cannabis and Cannabinoid Research. 2019;4(3):183–194.
26. Ferreira R, Filev R. Métodos de Extração Artesanal para Cannabis. Introdução ao Associativismo Canábico. p 76–85.
27. Liang Y-Z, Xie P-S, Chan K. Chromatographic Fingerprinting and Metabolomics for Quality Control of TCM. Comb Chem High Throughput Screen. 16 de novembro de 2010;13(10):943–53.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo demonstrou que o controle de qualidade dos fitocanabinoides presentes em produtos à base de extratos de *Cannabis sp* é essencial para o desenvolvimento de tais produtos bem como da ciência canabinoide como um todo. Entretanto, para que seja possível ter uma compreensão mais ampla dos efeitos desses compostos, principalmente quando utilizados através de extratos brutos, é desejável que sejam realizadas análises mais completas, quantificando, além dos fitocanabinoides, também os terpenos e flavonoides presentes na planta.

Com isso, faz-se necessária a realização de pesquisas para o desenvolvimento de um produto nacional, possibilitando que um maior número de famílias tenha acesso ao tratamento, seja para crianças, jovens, adultos e idosos. Para que tudo isso seja possível, é necessário também que os agentes públicos responsáveis pela regulamentação e controle facilitem o acesso às plantas de *Cannabis sp*, para pesquisa científica e produção doméstica e industrial.

REFERÊNCIAS

1. Mechoulam R, Shani A, Edery H, Grunfeld Y. Chemical Basis of Hashish Activity. *Science*. 1970;169(3945):611–612.
2. De Mello ARS, De Oliveira NPR, Coutinho DS, Machado S, Arias-Carrión O, Crippa JA, et al. Antidepressant-Like and Anxiolytic-Like Effects of Cannabidiol: A Chemical Compound of *Cannabis sativa*. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2014;13(6):953-960.
3. Russo EB. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol*. 2011;163(7):1344.
4. Gagne SJ, Stout JM, Liu E, Boubakir Z, Clark SM, Page JE. Identification of olivetolic acid cyclase from *Cannabis sativa* reveals a unique catalytic route to plant polyketides. *PNAS*. 2012;109(31):12811–6.
5. Hill AJ, Williams CM, Whalley BJ, Stephens GJ. Phytocannabinoids as novel therapeutic agents in CNS disorders. *Pharmacol Ther*. 2012;133(1):79–97.
6. Salentijn EMJ, Zhang Q, Amaducci S, Yang M, Trindade LM. New developments in fiber hemp (*Cannabis sativa* L.) breeding. *Ind Crops Prod*. 2015;68:32–41.
7. Zuardi AW, Crippa JAS, Hallak JEC. *Cannabis sativa*: A planta que pode produzir efeitos indesejáveis e também tratá-los. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2010;32:51–2.
8. Breijyeh Z, Jubeh B, Bufo SA, Karaman R, Scrano L. Cannabis: A Toxin-Producing Plant with Potential Therapeutic Uses. *Toxins (Basel)*. 2021;13(2):1-29.
9. Azevedo CF. O acesso legal à cannabis medicinal no Brasil: um direito fundamental. Florianópolis. Trabalho de Conclusão de Curso [Graduação em Direito] - Universidade Federal de Santa Catarina; 2020.
10. Collucci C, França V. Com diferentes legislações, cerca de 40 países autorizam maconha medicinal. Folha de S. Paulo [Internet]. 2019. Disponível em: <<https://www1.folha.uol.com.br/equilibrioesaude/2019/12/com-diferentes-legislacoescerca-de-40-paises-autorizam-maconha-medicinal.shtml>>.

- Acesso em 15 de mai. 2022.
11. Pain S. A potted history. *Nat* 2015 5257570. 23 de setembro de 2015;525(7570):S10–1.
 12. Hemp: A New Crop with New Uses for North America [Internet]. [citado 22 de março de 2022]. Available at: <https://www.hort.purdue.edu/newcrop/ncnu02/v5-284.html>
 13. Dependência química: prevenção, tratamento e políticas públicas | Porto Alegre; Artmed; 2011. 528 p. ilus, mapas, tab, graf. | SES-SP | LILACS | SES-SP [Internet]. [citado 22 de março de 2022]. Available at: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-756874?lang=en>
 14. Medeiros FC, Soares PB, Jesus RA de, Teixeira DG, Alexandre MM, Sabec GZ. Uso medicinal da Cannabis sativa (Cannabaceae) como alternativa no tratamento da epilepsia / Medicinal use of Cannabis sativa (Cannabaceae) as an alternative in the treatment of epilepsy. *Brazilian J Dev.* 28 de junho de 2020;6(6):41510–23.
 17. Mechoulam R, Burstein SH. Marijuana; chemistry, pharmacology, metabolism and clinical effects. New York: Academic Press; 1973. 409 p.
 18. Blake A, Wan BA, Malek L, DeAngelis C, Diaz P, Lao N, et al. A selective review of medical cannabis in cancer pain management. *Ann Palliat Med.* 1 de dezembro de 2017;6(Suppl 2):S215–22.
 19. Marcos R, Caetano S. Influência de aspectos políticos e culturais no desenvolvimento de pesquisas que empregam o uso de canabinóides. UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO.
 20. Carmo JS. Avaliação da qualidade microbiológica das flores e dos extratos medicinais de Cannabis sativa. Rio de Janeiro. Trabalho de Conclusão de Curso (Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz; 2019.
 21. Cannabis: faltam evidências científicas para proibir e criminalizar, não para produzir | CEE Fiocruz [Internet]. [citado 22 de março de 2022]. Available at: <https://cee.fiocruz.br/?q=Cannabis>
 22. CFM - Conselho Federal de Medicina [Internet]. [citado 22 de março de 2022]. Available at: <https://portal.cfm.org.br/canabidiol/motivos.php>

23. Honório KM, Arroio A, Da Silva ABF. Aspectos terapêuticos de compostos da planta *Cannabis sativa*. *Quim Nova*. 2006;29(2):318–25.
24. Backes M. *Cannabis Pharmacy: The Practical Guide to Medical Marijuana*. Nova York: Black Dog & Leventhal Publishers. 2017.
25. McPartland JM. Cannabis Systematics at the Levels of Family, Genus, and Species. *Cannabis and Cannabinoid Research*. 2018;3(1):203-212.
26. von Linné C. *Species Plantarum*. London: Laurentius Salvius. 1753.
27. Rizzo JA. CANNABIS SATIVA L. (MACONHA). *Rev Pat Trop*. 3(1):1172.
28. Zuardi AW. History of cannabis as a medicine: a review. *Rev Bras Psiquiatr*. 2006;28(2):153–7.
29. Chopra IC, Chipra RN. The use of Cannabis drugs in India. *Bulletin on Narcotics*. 1957;9(1):4-29.
30. Andre CM, Hausman JF, Guerreiro G. Cannabis sativa: the plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science*. 2016(7).
31. Ramirez CL, Fanovich MA, Churio MS. Cannabinoids: Extraction Methods, Analysis, and Physicochemical Characterization, *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier. 2019;61:143–173.
32. Mechoulam R, Parker LA. The Endocannabinoid System and the Brain. *Annual Review of Psychology*. 2013;64(1):21–47.
33. Zirpel B, Kayser O, Stehle F. Elucidation of structure-function relationship of THCA and CBDA synthase from *Cannabis sativa* L. *Journal of Biotechnology*. 2018;284:17-26.
34. Christelle MA, Hausman JF, Guerreiro G. Cannabis sativa: the plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science*. 2016(7).
35. Lucas CJ, Galettis P, Schneider J. The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. *Br J Clin Pharmacol*. 2018;84(11):2477-2482.
36. Brigante TAV, Abe FR, Zuardi AW, Hallak JEC, Crippa JA, Oliveira DP. Cannabidiol did not induce teratogenicity or neurotoxicity in exposed zebrafish embryos. *Chemico-Biological Interactions*. 2018;291(1):81-86.
37. Almeida DL, Devi LA. Diversity of molecular targets and signaling pathways for CBD. *Pharmacology Research & Perspective*. 2020;8(6).
38. LaVigne JE, Hecksel R, Keresztes A, Streicher JM. Cannabis sativa terpenes are cannabimimetic and selectively enhance cannabinoid activity.

- Scientific Reports. 2021;11(8232).
39. Frideric E, Mechoulam R. Pharmacological activity of the cannabinoid receptor agonist, anandamide, a brain constituent. *European Journal of Pharmacology*. 1993;231(2):313–314.
 40. Blázquez C, Carracedo A, Barrado L, Real PJ, Fernández-Luna JL, Velasco G, et al. Cannabinoid receptors as novel targets for the treatment of melanoma. *FASEB J*. 2006;20:2633–5.
 41. Zou S, Kumar U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. *International Journal of Molecular Sciences*. 2008;19(3):833-856.
 42. Morales P, Hernandez-Folgado L, Goya P, Jagerovicl. Cannabinoid receptor 2 (CB2) agonists and antagonists: a patent update. *Expert Opinion Therapeutic Patents*. 2016;26:843–856.
 43. Russo EB. Taming THC: Potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. Vol. 163, *British Journal of Pharmacology*. Wiley-Blackwell; 2011. p. 1344–64.
 44. Schurman LD, Lu D, Kendall DA, Howlett AC, Lichtman AH. Molecular Mechanism and Cannabinoid Pharmacology. *Handb Exp Pharmacol*. 2020;258:323–53.
 45. Organização das Nações Unidas. World Drug Report. United Nations Office on Drugs and Crime. New York, 2009. Disponível em: <<https://www.unodc.org/unodc/pt/data-and-analysis/WDR-2009.html>>
 46. Mechoulam R. Endocannabinoides e transtornos psiquiátricos: A estrada à frente. Vol. 32, *Revista Brasileira de Psiquiatria*. Associação Brasileira de Psiquiatria; 2010. p. 55–6.
 47. Jorge Nunes Carvalho Oliveira L DE, Revisão T DE. FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA TRABALHO FINAL DO 6º ANO MEDICO COM VISTA A ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DO MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA SISTEMA ENDOCANABINÓIDE E NEUROPROTECÇÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL ÁREA CIENTÍFICA DE FARMACOLOGIA TRABALHO REALIZADO SOBRE A ORIENTAÇÃO DE: PROFESSORA DOUTORA TICE DOS REIS ANASTÁCIO DE MACEDO. 2009.

48. Mechoulam R, Parker LA. The endocannabinoid system and the brain. Vol. 64, Annual Review of Psychology. Annual Reviews Inc.; 2013. p. 21–
49. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects - Russo - 2011 - British Journal of Pharmacology - Wiley Online Library [Internet]. [citado 17 de maio de 2021]. Available at: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x>
50. Anand P, Whiteside G, Fowler CJ, Hohmann AG. Targeting CB2 receptors and the endocannabinoid system for the treatment of pain. Vol. 60, Brain Research Reviews. NIH Public Access; 2009. p. 255–66.
51. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 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. 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-327-de-9-de-dezembro-de-2019-232669072>>
52. Conselho Federal de Farmácia. Resolução nº 680, de 20 de fevereiro de 2020. Regulamenta a atuação do Farmacêutico em medicamentos e produtos à base de Cannabis. Diário Oficial da União. 2020. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-n-680-de-20-fevereiro-de-2020-244862974>>
53. Brandão MGL, Cosenza GP, Moreira RA, Monte-Mor RLM. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. Rev Bras Farmacogn. 2006;16(3):408–20.
54. Vista Do Resolução-Rdc No 48, De 16 De Março De 2004. Dou 18 De Março De 2004. Revista Fitos. Disponível em: <https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/28/pdf_20>
55. World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials. Genebra. 1998.]
56. Peschel W, Politi M. ¹H NMR and HPLC/DAD for Cannabis sativa L. chemotype distinction, extract profiling and specification. Talanta. 5 de

- março de 2015;140:150–65.
57. MacCallum CA, Russo EB. Practical considerations in medical cannabis administration and dosing. *Eur J Intern Med.* 1 de março de 2018;49:12–9.
 58. Russell C, Rueda S, Room R, Tyndall M, Fischer B. Routes of administration for cannabis use – basic prevalence and related health outcomes: A scoping review and synthesis. *Int J Drug Policy.* 1 de fevereiro de 2018;52:87–96.
 59. Maconha: Anvisa não é contra uso para fins medicinais - cosmetovigilancia - Anvisa [Internet]. [citado 22 de março de 2022]. Available at: http://antigo.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=3470896&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=anvisa-nao-e-contra-uso-para-fins-medicinais&redirect=http%3A%2F%2Fantigo.anvisa.gov.br%2Fresultado-debusca%3Fp_p_id%3D3%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-1%26p_p_col_count%3D1%26_3_advancedSearch%3Dfalse%26_3_groupId%3D0%26_3_keywords%3DSemi%25C3%25A1rio%2Bvolta%2Ba%2Bdiscutir%26_3_assetCategoryIds%3D2879711%26_3_delta%3D20%26_3_resetCur%3Dfalse%26_3_cur%3D5%26_3_struts_action%3D%252Fsearch%252Fsearch%26_3_format%3D%26_3_assetTagNames%3Dcannabinidiol%26_3_andOperator%3Dtrue%26_3_formDate%3D1441824476958&inheritRedirect=true
 60. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC N° 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. *Diário Oficial da União.* 2014. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf>
 61. Conselho Federal de Medicina. Resolução nº 2.113, de 16 de dezembro de 2014. Aprova o uso compassivo do canabidiol para o tratamento de epilepsias da criança e do adolescente refratárias aos tratamentos

- convencionais. Diário Oficial da União. 2014. Disponível em: <https://sistemas.cfm.org.br/normas/visualizar/resolucoes/BR/2014/2113>>
62. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 598, de 9 de fevereiro de 2022. Dispõe sobre a atualização do Anexo I (Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial) da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998. Diário Oficial da União. 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-598-de-9-de-fevereiro-de-2022-380761265>>
63. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 156, de 5 de maio de 2017. Dispõe sobre a alteração das Resoluções da Diretoria Colegiada - RDC nº 64/2012, nº 29/2013, nº 42/2014, nº 01/2015, nº 11/2015, nº 71/2016 e nº 104/2016, para a inclusão, alteração exclusão de Denominações Comuns Brasileiras - DCB, na lista completa das DCB da Anvisa. Diário Oficial da União. 2017. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/20198336/do1-2017-05-08-resolucao-rdc-n-156-de-5-de-maio-de-2017-20198229.
64. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 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. 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-660-de-30-de-marco-de-2022-389908959>>
65. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 660, de 31 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. 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-660-de-30-de-marco-de-2022-389908959>>
66. Figueiredo E. A Produção da Verdade Legal sobre a Cannabis no Brasil. Câmara de Deputados. 2019. Disponível em:

- <<https://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoestemporarias/especiais/56a-legislatura/pl-0399-15-medicamentos-formulados-comcannabis/documentos/audienciaspublicas/EmilioFigueiredoCamaraREFORMAcompactado.pdf>>
67. Rocha ED, Silva VEA, Pereira FCS, Jean VM, Souza FLS, Baratto LC. Qualitative terpene profiling of Cannabis varieties cultivated for medical purposes. *Rodriguésia*. 2020;71:1-10.
 68. Machado L. A associação de pacientes que obteve autorização para plantar maconha para fins medicinais no RJ. BBC. 2020. Disponível em: <<https://www.bbc.com/portuguese/brasil-53425501>>
 69. Policarpo F, Veríssimo M, Figueiredo E. A "fumaça do bom direito": demandas pelo acesso legal à maconha na cidade do Rio de Janeiro. *Platô: Drogas e Políticas*. 2017;1:7-38.
 70. Plataforma da Câmara dos Deputados [homepage da internet]. PL 399/2015 [acesso em: 17 de maio de 2022]. Disponível em: <<https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=947642>>
 71. Carvalho VM, Aguiar AFL, Baratto LC, Souza FLC, Rocha ED. Quantificação De Canabinoides Em Extratos Medicinais De Cannabis Por Cromatografia Líquida De Alta Eficiência. *Quim Nova*. 2020;43(1):90–7.
 72. Perrotin-Brunel, H.; Buijs, W.; Van Spronsen, J.; Van Roosmalen, M. J. E.; Peters, C. J.; Verpoorte, R.; Witkamp, G. J. Decarboxylation of Δ^9 -tetrahydrocannabinol: Kinetics and molecular modeling. **Journal of Molecular Structure**, v. 987, n. 1, p. 67-73, feb. 2011.