



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS
BIOATIVOS

DÉBORA NASCIMENTO DE AQUINO

AVALIAÇÃO DO PERFIL TOXICOLÓGICO *IN SILICO* E *IN VIVO* DE EXTRATOS
DA PLANTA *Cannabis sativa* L. CONTENDO OS FITOCANABINOIDES
CANABIDIOL E Δ_9 -TETRAIDROCANABINOL

João Pessoa

2025

DÉBORA NASCIMENTO DE AQUINO

**AVALIAÇÃO DO PERFIL TOXICOLÓGICO *IN SILICO* E *IN VIVO* DE EXTRATOS
DA PLANTA *Cannabis sativa* L. CONTENDO OS FITOCANABINOIDES
CANABIDIOL E Δ_9 -TETRAIDROCANABINOL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de **Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos**. Área de concentração: **Farmacologia**.

Orientadora: Dra. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz

Coorientadora: Dra. Micheline Freire Donato

João Pessoa

2025

**Catalogação na publicação
Seção de Catalogação e Classificação**

A657a Aquino, Débora Nascimento de.

Avaliação do perfil toxicológico in silico e in vivo
de extratos da planta Cannabis sativa L. contendo os
fitocanabinoides canabidiol e delta
9-tetraidrocanabinol / Débora Nascimento de Aquino. -
João Pessoa, 2025.

146 f. : il.

Orientação: Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz.
Coorientação: Micheline Freire Donato.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Cannabis sativa L. 2. Canabidiol (CBD). 3.
Tetraidrocanabinol. 4. Toxicologia. 5. Método OECD 423.
6. Teste in silico. I. Diniz, Margareth de Fátima
Formiga Melo. II. Donato, Micheline Freire. III. Título.

UFPB/BC

CDU 615.322 (043)

DÉBORA NASCIMENTO DE AQUINO

**AVALIAÇÃO DO PERFIL TOXICOLÓGICO *IN SILICO* E *IN VIVO* DE EXTRATOS
DA PLANTA *Cannabis sativa* L. CONTENDO OS FITOCANABINOIDES
CANABIDIOL E Δ_9 -TETRAIDROCANABINOL**

Tese apresentada ao Programa de Pós- graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de **Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos**. Área de concentração: **Farmacologia**.

Aprovada em: 26/08/2025

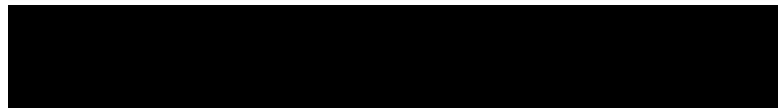
Banca Examinadora



Profa. Dra. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz (Orientadora)
Universidade Federal da Paraíba – UFPB



Profa. Dra. Lindomar de Farias Belém (Examinadora Externa)
Universidade Estadual da Paraíba – UFPB



Profa. Dra. Hilzeth De Luna Freire Pessoa (Examinadora Externa)
Universidade Federal da Paraíba – UFPB



Prof. Dr. Davi Felipe Farias (Examinador Interno)
Universidade Federal da Paraíba – UFPB



Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro (Examinador Interno)
Universidade Federal da Paraíba – UFPB

João Pessoa
2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal da Paraíba (UFPB) pelo suporte institucional. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro. Ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPGPNSB), e ao Laboratório de Ensaios Toxicológicos (LABETOX) pela estrutura acadêmica e científica que permitiu o desenvolvimento desta pesquisa.

“A Cannabis está para o século XXI como a penicilina esteve para o século XX”

Sidarta Ribeiro

**Avaliação do Perfil Toxicológico *In Silico* e *In Vivo* de
Extratos da Planta *Cannabis Sativa* L.
Contendo os Fitocanabinoides CBD e Δ_9 -THC.
DE AQUINO, D. N.
Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Tese/CCS/UFPB 2025**

RESUMO

A *Cannabis sativa* L., utilizada há milênios para fins medicinais e industriais, possui uma composição química complexa, com destaque para os fitocanabinoides, como o canabidiol (CBD) e o Δ_9 -tetraidrocanabinol (Δ_9 -THC). Apesar do avanço nas pesquisas farmacológicas, lacunas persistem quanto à toxicidade de extratos integrais (*full spectrum*), essenciais para embasar seu uso terapêutico seguro. Este estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade *in silico* do Δ_9 -THC e CBD isolados, e o perfil toxicológico agudo do extrato integral enriquecido com Δ_9 -THC e CBD, identificando possíveis alvos de toxicidade e contribuindo para a compreensão de sua segurança. No teste *in silico*, três ferramentas foram utilizadas: ADMETsar, Pass online e ProTox. Os resultados *in silico* apresentaram toxicidade oral aguda classe III e IV para a estrutura química do delta-9-tetraidrocanabinol e canabidiol nos testes ADMETsar e ProTox respectivamente. Além de demonstrar pontos finais de toxicidade para diversos alvos, entre eles, toxicidade respiratória, imunotoxicidade, ecotoxicidade, entre outros. Foi realizado um teste de toxicidade oral aguda, seguindo o protocolo OECD 423 (2001), em modelo animal, com administração única de 2000 mg/kg e observação por 14 dias. Foi realizada a triagem farmacológica e parâmetros durante os 14 dias foram observados. Após a eutanásia, amostras de sangue foram coletadas para análises laboratoriais de parâmetros hematológicos e bioquímicos. Uma necropsia macroscópica foi realizada e análise histopatológica foi conduzida. Em relação à toxicidade aguda, nenhuma alteração nos parâmetros hematológicos e histopatológicos foram observadas. Os resultados demonstram um perfil de segurança favorável para o extrato integral de *Cannabis sativa* enriquecido com Δ_9 -THC e CBD, alinhando-se a aplicações terapêuticas controladas. Esta pesquisa fornece bases científicas para a regulamentação de produtos à base de *Cannabis* no Brasil, subsidiando decisões clínicas e normativas pela ANVISA.

Palavras-chave: *Cannabis sativa* L., canabidiol (CBD), Δ_9 -tetraidrocanabinol (Δ_9 -THC), toxicologia, teste *in silico*, OECD 423.

Avaliação do Perfil Toxicológico *In Silico* e *In Vivo* de Extratos da Planta *Cannabis Sativa* L. Contendo os Fitocannabinoides CBD e Δ_9 -THC.
DE AQUINO, D. N.
Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Tese/CCS/UFPB 2025

ABSTRACT

Cannabis sativa L., used for millennia for medicinal and industrial purposes, has a complex chemical composition, with particular emphasis on phytocannabinoids such as cannabidiol (CBD) and Δ_9 -tetrahydrocannabinol (Δ_9 -THC). Despite advances in pharmacological research, gaps remain regarding the toxicity of full-spectrum extracts, which are essential to support their safe therapeutic use. This study aimed to evaluate the *in silico* toxicity of isolated Δ_9 -THC and CBD, as well as the acute toxicological profile of a full-spectrum extract enriched with Δ_9 -THC and CBD, identifying potential toxicity targets and contributing to a better understanding of their safety. For the *in silico* assessment, three computational tools were employed: ADMETsar, PASS online, and ProTox. The *in silico* results indicated acute oral toxicity classes III and IV for the chemical structures of Δ_9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol, respectively, according to the ADMETsar and ProTox analyses. Additionally, several toxicity endpoints were predicted, including respiratory toxicity, immunotoxicity, and ecotoxicity, among others. An acute oral toxicity test was conducted in an animal model following the OECD Guideline 423 (2001), using a single administration of 2000 mg/kg with a 14-day observation period. Pharmacological screening was performed, and parameters were monitored throughout the 14 days. After euthanasia, blood samples were collected for hematological and biochemical analyses. Macroscopic necropsy and histopathological examinations were also carried out. Regarding acute toxicity, no alterations were observed in hematological and histopathological parameters. The results demonstrate a favorable safety profile for the full-spectrum *Cannabis sativa* extract enriched with Δ_9 -THC and CBD, supporting its potential for controlled therapeutic applications. This research provides a scientific basis for the regulation of *cannabis*-based products in Brazil, contributing to clinical and regulatory decision-making by ANVISA.

Keywords: *Cannabis sativa* L., cannabidiol (CBD), Δ_9 -tetrahydrocannabinol (Δ_9 -THC), toxicology, *in silico* test, OECD 423.

LISTA DE ABREVIATURAS

2-AG - 2-araquidonoilglicerol

4CL - 4-cumarato-CoA ligase

5-HT1A - receptores de serotonina

AA - ácido araquidônico

A2A - receptor de adenosina

AEA - araquidonoiletanolamina

Ca²⁺ - íons cálcio

CBCA - ácido cannabicromênico

CBD - canabidiol

CBDA - ácido canabidiólico

CBDAS - CBDA sintase

CBGA - ácido canabigerólico

CBN - cannabinol

CBRs - receptores canabinoïdes

CB1-R - receptor canabinoide tipo 1

CB2-R - receptor canabinoide tipo 2

C4H - cinnamato-4-hidroxilase

CCK - colecistocinina

CHI - chalcona isomerase

CHS - chalcona sintase

CI50 - concentração inibitória de 50%

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

CYP450 - citocromo P450

DAG - diacilglicerol

DAGL - diacilglicerol lipase

DL50 - dose letal que mata 50% de uma população

DMAPP - dimetilalil difosfato

Ecdoma - endocannabinoidoma

Era - receptor de estrogênio α

FAAH - ácido graxo hidrolase

FNS - flavona sintase

FPP - farnesil difosfato

GABA - ácido gama-aminobutírico

GGPP - geranil-geranil difosfato
GHS - Sistema Globalmente Harmonizado
GPCR - receptores acoplados à proteína G
GPP - geranil difosfato
GPR - receptores órfãos
HE - hematoxilina-eosina
I_KB - Inibidor do fator nuclear kappa B
IFN-β - interferon beta
IPP - isopentenil difosfato
IP₃ - inositol trifosfato
MAGL - monoacilglicerol lipase
NADA - N-araquidonoil dopamina
NAM - modulador alóstérico negativo
NAPE-PLD - acil-fosfatidiletanolamina-fosfolipase D
NF-κB - Fator Nuclear Kappa B
OEA - oleoiletanolamida
OLA - ácido olivetólico
OLS - olivetolato geranyltransferase ou olivetol sintase
OMS - Organização Mundial de Saúde
PAL - fenilalanina amônia-liase
PEA - palmitoiletanolamida
PIP₂ - fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
PLCβ - fosfolipase Cβ
PPAR - receptor ativado por proliferador de peroxissoma
SEA - estearoiletanolamida
SEC - Sistema Endocanabinoide
SesquiTPS - sesquiterpeno sintase
SNA - Sistema Nervoso Autônomo
SNC - Sistema Nervoso Central
TAG - transtorno de ansiedade generalizada
TAS - transtorno de ansiedade social
TEPT - transtorno de estresse pós-traumático
THCAS - THCA sintase
TOC - transtorno obsessivo-compulsivo
TP - transtorno do pânico

TPS - terpeno sintase

TRPV - receptor potencial transitório vaniloide

UGT - UDP-glucuronosiltransferase

Δ_9 -THC - delta-9-tetraidrocanabinol

Δ_9 -THCA - ácido tetraidrocanabinólico

Δ_9 -THCVA - ácido tetrahidrocannabivarínico

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura química dos dois principais endocanabinoides. (Adaptado de Kano, Ohno-Shosaku, Hashimotodani, et al., 2009).....	21
Figura 2- Sinalização retrógrada de endocanabinoides. (Adaptado de Farrelly, Vlachou, Grintzalis, 2021).....	24
Figura 3- Componentes do endocanabinoidoma.....	25
Figura 4- Diagrama esquemático mostra o Sistema Endocanabinoide (SEC) e seus diferentes componentes na fisiologia celular normal.	27
Figura 5- Ilustração gráfica da <i>Cannabis sativa</i> L.....	30
Figura 6- Composição química do fitocanabinoide Δ_9 -THC (Adaptado de Thomas, ElSohly, 2015).	36
Figura 7- Biossíntese do Δ_9 -tetraidrocannabinol (Δ_9 -THC) (Adapatado de Bloemendal, Van Hest, Rutjes, 2020).....	37
Figura 8- Composição química do fitocanabinoide CBD (Adaptado de Thomas, ElSohly, 2015).	40
Figura 9- Biossíntese do canabidiol (CBD) (Adapatado de Bloemendal, Van Hest, Rutjes, 2020).....	41
Figura 10- Vias de biossíntese de fitocanabinoides, terpenos, esteróis e flavonoides (Adapatado de Jin et al., 2020).....	47
Figura 11- Algorítmo para procedimento de ensaio de toxicidade aguda com dose inicial de 2000 mg/Kg (OECD 423, 2001).....	58
Figura 12- Cortes histológicos órgãos de camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ_9 -THC.....	79
Figura 13- Cortes histológicos órgãos de camundongos Swiss machos tratados com óleo de milho.....	80
Figura 14- Cortes histológicos de órgãos de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ_9 -THC nas concentrações 300 mg/Kg e 2000 mg/Kg.	90
Figura 15- Cortes histológicos dos órgãos de camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD e óleo de milho.	106
Figura 16- Cortes histológicos dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD e óleo de milho.	114

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1-** Peso do sistema reprodutor em gramas de camundongos Swiss machos. Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em Δ₉-THC na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05.. 75
- Gráfico 2-** Altura em centímetros do pulmão (A), baço (B) e estômago (C) de camundongos Swiss machos. Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em Δ₉-THC na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05. 77
- Gráfico 3-** Peso em gramas do baço (A), fígado (B) e intestino (C) de camundongos Swiss fêmeas. Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em Δ₉-THC na dose de 300 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina)..... 88
- Gráfico 4-** Consumo de ração de camundongos Swiss machos tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05..... 98
- Gráfico 5-** Leucócitos totais de camundongos Swiss machos tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05. 100
- Gráfico 6-** Peso do sistema reprodutor em gramas de camundongos Swiss machos. Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05.103
- Gráfico 7-** Altura em centímetros do pulmão (A), baço (B) e estômago (C) de camundongos Swiss machos. Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05..... 104
- Gráfico 8-** Consumo de ração de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05. 108
- Gráfico 9-** Evolução ponderal de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05. 109
- Gráfico 10-** Fosfatase alcalina de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05..... 111

Gráfico 11- Peso do intestino em gramas de camundongos Swiss fêmeas. Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05. 112

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração em camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ₉-THC na dose de 2000 mg/Kg.....	72
Quadro 2- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração em camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ₉-THC na dose de 2000 mg/Kg.....	80
Quadro 3- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração da repetição da dose de 2000 mg/Kg em camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ₉-THC.....	82
Quadro 4- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração em camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ₉-THC na dose de 300 mg/Kg.....	83
Quadro 5- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração em camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.....	97
Quadro 6- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração em camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.....	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Propriedades de classificação ADMET, calculadas no software admetSAR, para a substância C ₂₁ H ₃₀ O ₂ (delta-9-tetraidrocannabinol)	67
Tabela 2- Propriedades de classificação ProTox II, calculadas para a substância C ₂₁ H ₃₀ O ₂ (delta-9-tetraidrocannabinol)	68
Tabela 3- Predição dos Espectros de Atividade (PASS) do Delta-9- tetraidrocannabinol (C ₂₁ H ₃₀ O ₂).....	69
Tabela 4- Avaliação do consumo de água e ração de camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 2000 mg/Kg.	73
Tabela 5- Avaliação da evolução ponderal de camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 2000 mg/Kg.	73
Tabela 6- Avaliação hematológica do sangue camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 2000 mg/Kg.	73
Tabela 7- Avaliação bioquímica do sangue camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 2000 mg/Kg.	74
Tabela 8- Avaliação bioquímica do sangue camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 2000 mg/Kg.	75
Tabela 9- Altura dos órgãos de camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 2000 mg/Kg.....	77
Tabela 10- Largura dos órgãos de camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 2000 mg/Kg.....	79
Tabela 11- Avaliação do consumo de água e ração de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 300mg/kg.....	85
Tabela 12- Avaliação da evolução ponderal de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 300mg/kg.....	85
Tabela 13- Avaliação hematológica do sangue de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 300mg/kg.....	86
Tabela 14- Avaliação bioquímica do sangue de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 300mg/kg.....	86
Tabela 15- Peso dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 300 mg/Kg.....	87
Tabela 16- Altura dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ ₉ -THC na dose de 300 mg/Kg.....	89

Tabela 17- Largura dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em Δ_9 -THC na dose de 300 mg/Kg.....	89
Tabela 18- Parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos (ADMET – Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) do canabidiol (C21H30O2) ...	95
Tabela 19- Resultados da predição de toxicidade oral (PROTOX) para o canabidiol (C21H30O2)	96
Tabela 20- Predição dos Espectros de Atividade (PASS) do canabidiol.....	96
Tabela 21- Avaliação do consumo de água e ração de camundongos Swiss machos tratados com extrato <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.	98
Tabela 22- Avaliação da evolução ponderal de camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.....	98
Tabela 23- Avaliação hematológica do sangue camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.....	99
Tabela 24- Avaliação bioquímica do sangue camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.....	101
Tabela 25- Peso dos órgãos de camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.	103
Tabela 26- Altura dos órgãos de camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.	104
Tabela 27- Largura dos órgãos de camundongos Swiss machos tratados com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.	105
Tabela 28- Avaliação do consumo de água e ração de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.....	108
Tabela 29- Avaliação da evolução ponderal de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.....	109
Tabela 30- Avaliação hematológica do sangue de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.....	109
Tabela 31- Avaliação bioquímica do sangue de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.....	110
Tabela 32- Peso dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.	111
Tabela 33- Altura dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.	113
Tabela 34- Largura dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de <i>Cannabis</i> rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.	114

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO	20
2.1 Sistema Endocanabinoide (SEC)	20
2.2 Patologias acometidas pelo SEC	26
2.3 <i>Cannabis Sativa L.</i>	29
2.3.1 Origem e disseminação da planta <i>Cannabis sativa L.</i>	29
2.3.2 Histórico Medicinal	32
2.3.3 Fitocanabinoide Δ_9-THC	35
2.3.4 Fitocanabinoide CBD	39
2.3.5 Outros metabólitos, Quimiotaxonomia e Efeito Comitiva	44
2.3.6 Ensaios Toxicológicos e Legislação (RDC 327)	50
3 OBJETIVOS	53
3.1 Objetivo Geral	53
3.2 Objetivos Específicos	54
4 MATERIAL E MÉTODOS	54
4.1 Substância Teste	54
4.2 Análise Química do Extrato Integral de <i>Cannabis sativa</i> rico em fitocanabinoides CBD e Δ_9-THC por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – HPLC	55
4.3 Análises Computacionais <i>In Silico</i>	56
4.3.1 Predição ADMET utilizando AdmetSAR	56
4.3.2 Predição da toxicidade química utilizando a ferramenta ProTox II	56
4.3.3 Predição da atividade farmacológica e vias moleculares utilizando a ferramenta Passonline	57
4.4 Procedimento Experimental <i>In Vivo</i>	57
4.4.1 Animais	57
4.4.2 Ensaio toxicológico agudo	58
4.5 Parâmetros Avaliados	59
4.5.1 Avaliação Comportamental e Motora	59
4.5.2 Triagem Farmacológica	59
4.5.3 Consumo de Água, Ração e Evolução Ponderal	60
4.5.4 Parâmetros Hematológicos	60
4.5.5 Parâmetros Bioquímicos	61
4.5.6 Exame Anatomopatológico	61

4.5.7 Planejamento de Medidas para Diminuir Dor, Estresse ou Outro Sofrimento	61
4.6 Análises Estatísticas	62
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1 DELTA-9 TETRAIDROCANABINOL (Δ_9-THC)	63
5.1.1 Ensaios <i>In Silico</i> Δ_9-THC	63
5.1.1.1 AdmetSAR Δ_9-THC	67
5.1.1.2 ProTox Δ_9-THC	68
5.1.1.3 PassOnline Δ_9-THC	69
5.1.2 Ensaio toxicológico agudo (extrato integral rico em Δ_9-THC)	69
5.1.2.1 MACHOS	70
5.1.2.1.1 Avaliação comportamental e motora	70
5.1.2.1.2 Triagem Farmacológica	71
5.1.2.1.3 Consumo de Água, Ração e Evolução Ponderal	73
5.1.2.1.4 Parâmetros Hematológicos	73
5.1.2.1.5 Parâmetros Bioquímicos	74
5.1.2.1.6 Parâmetros Anatomopatológicos	74
5.1.2.1.7 Parâmetros Histológicos	79
5.1.2.2 FÊMEAS	80
5.1.2.2.1 Triagem Farmacológica	80
5.1.2.2.2 Consumo de Água, Ração e Evolução Ponderal	85
5.1.2.2.3 Parâmetros Hematológicos	85
5.1.2.2.4 Parâmetros Bioquímicos	86
5.1.2.2.5 Parâmetros Anatomopatológicos	87
5.1.2.2.6 Parâmetros Histológicos	90
5.2 CANABIDIOL (CBD)	91
5.2.1 Ensaios <i>In Silico</i> CBD	91
5.2.1.1 AdmetSAR CBD	95
5.2.1.2 ProTox CBD	95
5.2.1.3 PassOnline CBD	96
5.2.2 Ensaio toxicológico agudo (extrato integral rico em CBD)	96
5.2.2.1 MACHOS	96
5.2.2.1.1 Triagem farmacológica	96
5.2.2.1.2 Consumo de Água, Ração e Evolução Ponderal	98
5.2.2.1.3 Parâmetros Hematológicos	99
5.2.2.1.4 Parâmetros Bioquímicos	101
5.2.2.1.5 Parâmetros Anatomopatológicos	103

5.2.2.1.6 Parâmetros Histopatológicos	106
5.2.2.2 FÊMEAS.....	106
5.2.2.2.1 Triagem Farmacológica	107
5.2.2.2.2 Consumo de Água, Ração e Evolução Ponderal	107
5.2.2.2.3 Parâmetros Hematológicos	109
5.2.2.2.4 Parâmetros Bioquímicos.....	110
5.2.2.2.5 Parâmetros Anatomopatológicos	111
5.2.2.2.6 Parâmetros Histopatológicos	114
6 CONCLUSÃO	116
7 PERSPECTIVAS	117
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118
ANEXOS.....	138

1 INTRODUÇÃO

A *Cannabis sativa* L., espécie vegetal originária da Ásia, inserida na família Cannabaceae, está entre as plantas com a trajetória histórica mais longa já documentada. Registros paleobotânicos apontam que possivelmente essa espécie tem sua existência desde aproximadamente 12.000 anos a.C. Adicionalmente, achados arqueológicos demonstram que ela já era empregada há mais de quatro milênios, seja para fins terapêuticos ou em cerimônias espirituais (Pisanti & Bifulco, 2019).

Dotada de múltiplas aplicações, a planta integrou-se à civilização humana ao fornecer matéria-prima para confecção de cordas e redes, enquanto suas sementes serviam tanto como fonte nutricional quanto para extração de óleos (Clarke & Merlin, 2016).

Consequentemente, as sementes e exemplares dessa espécie dispersaram-se junto com os povos nômades. Esse deslocamento favoreceu uma relação de cooperação recíproca, tanto o homem quanto a planta facilitaram sua expansão geográfica mútua (Clarke & Merlin, 2016). O processo de distribuição mundial concluiu-se quando a espécie atingiu o continente africano, posteriormente a América do Sul, e finalmente a América do Norte (Crocq, 2020).

Na segunda metade do século XX, mais precisamente nos anos 1960, o pesquisador israelense Raphael Mechoulam conseguiu isolar e sintetizar o canabidiol (CBD), o delta-9-THC (tetraidrocannabinol) e diversos outros fitocanabinoides. Paralelamente, no Brasil, durante a década de 1980, o cientista Elisaldo Carlini e sua equipe foram pioneiros em publicar estudos que destacavam a possível eficácia do CBD no manejo de crises convulsivas (Cunha, Carlini, Pereira *et al.*, 1980).

Ao longo do tempo, os estudos científicos avançaram significativamente, revelando que a *Cannabis* possui uma composição química complexa, com mais de 538 substâncias identificadas. Dentre esses compostos, aproximadamente 100 são classificados como fitocanabinoides, estruturas moleculares caracterizadas por monoterpenos com substituição arila. Além desses, a planta apresenta uma diversidade química abrangente, distribuída em 18 categorias distintas, como alcaloides, aminoácidos, hidrocarbonetos, carboidratos, terpenoides, flavonoides,

compostos orgânicos variados e ácidos graxos (Bonini, Premoli, Tambaro *et al.*, 2018).

O entendimento das propriedades farmacológicas evoluiu consideravelmente após o isolamento e síntese desses principais fitocanabinoides, o Δ_9 -THC e o CBD. Pesquisas revelaram atividades analgésica (Rahn & Hohmann, 2009), neuroprotetora, incluindo ação antioxidante (Hampson, Grimaldi, Axelrod *et al.*, 1998), potencial anticonvulsivante (Jones, Hill, Smith *et al.*, 2010), efeitos ansiolíticos (Russo, 2005), dentre muitas outras.

A utilização da planta como medicina foi ganhando conhecimento da população e consequentemente aumentando seu uso. Foi então que década de 50, quando a sua utilização era proibida no Brasil, profissionais contratados pelo governo da época, fizeram testes em animais, intoxicando-os para confirmar a toxicidade/letalidade da planta, sem nenhum rigor ou padrão científico (Dias, Dos Santos, 2021).

Dessa forma, surgiu-se a necessidade de confirmar a toxicidade desses compostos para que possa ser usado na terapêutica com segurança, sem colocar o paciente em risco, indicando a concentração segura da substância (De Aquino, Diniz, 2025).

Sendo assim, a toxicologia é uma ciência multidisciplinar que estuda os efeitos adversos ocasionados por substâncias químicas no ser humano e no meio ambiente (Adebal, Délia, Dias, 2001). Para isso, estudos não clínicos de segurança como estudos de toxicidade de dose única (aguda), toxicidade de doses repetidas, toxicidade reprodutiva, genotoxicidade, tolerância local e carcinogenicidade são necessários (Anvisa, 2013).

Nesse contexto, o teste de toxicidade oral aguda, é uma etapa preliminar para avaliação da substância estudada (OECD 423/2001). É um teste utilizado para avaliar a toxicidade produzida por uma substância quando esta é administrada em uma ou mais doses durante um período não superior a 24 horas, seguido de observação dos animais por 14 dias após a administração (Anvisa, 2013).

Essa etapa preliminar faz parte do processo de registro de medicamentos onde se exige a realização de pesquisas não clínicas que permitam avaliar as interações farmacológicas entre os princípios ativos combinados. Esses estudos devem abranger análises farmacodinâmicas, farmacocinéticas e toxicológicas, com

o propósito de identificar possíveis efeitos aditivos, sinérgicos ou antagônicos resultantes da utilização terapêutica (Anvisa, 2013).

Considerando tais aspectos e com o objetivo de assegurar a segurança e eficácia terapêutica, este estudo analisou o perfil toxicológico e a relação risco-benefício do extrato integral de *Cannabis* enriquecido com CBD e Δ_9 -THC, identificando seus possíveis órgãos-alvo de toxicidade. Os resultados deste estudo contribuem para a compreensão dos efeitos biológicos da substância, fornecendo subsídios científicos para sua aplicação clínica segura.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Sistema Endocanabinoide (SEC)

A descoberta e o isolamento dos principais fitocanabinoides permitiram o progresso das investigações científicas ao longo do tempo, culminando, no fim da década de 80, com a identificação do primeiro receptor canabinoide (CB1R) (Devane, Dysarz, Johnson *et al.*, 1988), seguido pela descoberta do receptor CB2R por Munro e colegas em 1993. Tais achados levaram à inferência de que deveria existir um sistema endógeno responsável pela modulação dos efeitos dos principais fitocanabinoides no organismo humano (Howlett, Barth, Bonner, *et al.*, 2002).

Assim, esses estudos confirmaram a existência desse sistema endógeno com função fundamental no Sistema Nervoso Central (SNC), além de atuar na modulação da atividade neuronal em indivíduos adultos (Lu, Mackie, 2021).

Esse sistema foi denominado Sistema Endocanabinoide (SEC), onde engloba os canabinoides endógenos (eCBs), incluindo a araquidonoletanolamina (AEA), também conhecida como anandamida, e o 2-araquidonoilglicerol (Figura 1) (2-AG) (Kruk-Slomka, Banaszkiewicz, Slomka, *et al.*, 2019). Além disso, o SEC abrange receptores específicos acoplados à proteína G (GPCRs), os CB1-R e CB2-R, bem como as proteínas responsáveis pelo transporte, biossíntese e metabolismo desses compostos, como as enzimas ácido graxo hidrolase (FAAH) e monoacilglicerol lipase (MAGL) (Kruk-Slomka, *et al.*, 2019).

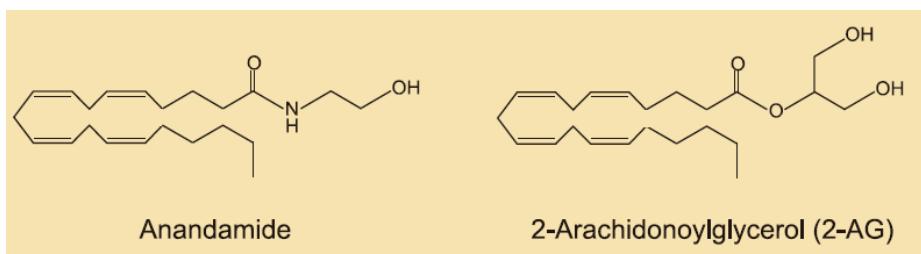


Figura 1- Estrutura química dos dois principais endocanabinoides (Adaptado de Kano, Ohno-Shosaku, Hashimotodani *et al.*, 2009).

Os receptores canabinoides do tipo CB1-R apresentam elevada densidade de expressão no SNC, enquanto os CB2-R predominam em células imunitárias (Huang, Chen & Zhang, 2016), com evidências de sua localização em terminais pré-sinápticos neuronais (Oddi, Scipioni, Maccarrone, 2020), sendo expressos na micróglia em doenças neurodegenerativas, como Doença de Alzheimer, esclerose múltipla e esclerose lateral amiotrófica (Aymerich, Aso, Abellanas *et al.*, 2018).

Após sua detecção em tecido cerebral em condições fisiológicas (Van Sickle, Oland, Mackie *et al.*, 2003), pesquisas subsequentes indicaram a participação do SEC na modulação de diversos mecanismos neurobiológicos, incluindo ações anti-inflamatórias, neuroprotetoras e de mediação da plasticidade neural (Navarrete, García-Gutiérrez, Aracil-Fernández *et al.*, 2018).

Desse modo, o receptor canabinoide CB1-R, cuja codificação genética é realizada pelo gene CNR1, apresenta uma estrutura molecular composta por 472 aminoácidos, manifestando-se em três isoformas distintas. A isoforma primária, de conformação canônica alongada, demonstra expressão predominante no tecido encefálico e muscular esquelético, enquanto as variantes truncadas, caracterizadas pela deleção de 33 aminoácidos na região terminal-N, exibem maior prevalência em células hepáticas e pancreáticas, indicando seu papel metabólico. Em contraste, o CB2-R, codificado pelo gene CNR2, possui uma cadeia polipeptídica mais curta, com 360 aminoácidos, compartilhando apenas 44% de homologia sequencial com o CB1-R (Mcpartland, Glass, 2003).

Sendo assim, ambos os receptores canabinoides (CBRs) exercem funções neuroprotetoras durante processos de excitotoxicidade. A ativação do CB1-R promove a hiperpolarização das membranas neuronais, regulando simultaneamente as vias de transdução de sinal, a liberação de neurotransmissores, incluindo o glutamato excitatório e o GABA (ácido gama-aminobutírico) inibitório, e a modulação

de citocinas. Esse mecanismo de ação agonista demonstra capacidade protetora contra danos neuronais em condições excitotóxicas, como as observadas na Doença de Alzheimer (Marsicano, Goodenough, Monory *et al.*, 2003).

Em adição, estudos científicos comprovam que a estimulação do receptor CB1 suprime a liberação de diversos neurotransmissores. Entre os mensageiros químicos afetados por essa modulação, encontram-se o glutamato, o GABA, a glicina, a acetilcolina, a noradrenalina, a dopamina, a serotonina e a colecistocinina (CCK) (Kano *et al.*, 2009).

Paralelamente, os CB2-R operam na atenuação da neuroinflamação, inibindo a ativação microglial e consequentemente reduzindo a degeneração progressiva dos neurônios dopaminérgicos da via nigroestriatal, um processo característico da fisiopatologia da Doença de Parkinson. Desta forma, ambos os receptores canabinoides apresentam mecanismos complementares de neuroproteção, atuando tanto na regulação da excitabilidade neuronal quanto no controle da resposta neuroinflamatória (García-Arencibia, González, De Lago *et al.*, 2007).

Sendo assim, os receptores canabinoides CB1-R e CB2-R apresentam acoplamento preferencial às proteínas G do tipo Gi/Go. Quando ativados, esses receptores desencadeiam uma cascata de sinalização que inclui: elevação da concentração intracelular de cálcio (Ca^{2+}), ativação de fosfolipases de membrana, e subsequente conversão do ácido araquistônico (AA) em endocanabinoides (Castillo, Younts, Chávez *et al.*, 2012).

Em síntese, a produção do endocanabinoide 2-araquidonoilglicerol (2-AG) ocorre principalmente através da ativação da fosfolipase C β (PLC β), que pode ser mediada tanto pela via dependente quanto independente da diacilglicerol lipase (DAGL). Na via dependente de Gq/11, a PLC β hidrolisa fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP₂) em inositol trifosfato (IP₃) e diacilglicerol (DAG), sendo este último convertido em 2-AG (Castillo *et al.*, 2012).

Por outro lado, a síntese de anandamida (AEA) envolve predominantemente a ação da N-acil-fosfatidiletanolamina-fosfolipase D (NAPE-PLD), enzima responsável pela clivagem de N-acil-fosfatidiletanolaminas em AEA (Castillo *et al.*, 2012).

Dessa modo, estudos farmacológicos demonstram diferenças significativas no perfil de ativação dos principais endocanabinoides. A anandamida (AEA) comporta-se como agonista parcial de alta afinidade pelo receptor CB1-R, porém exibe baixa

eficácia agonista no CB2-R. Em contraste, o 2-AG atua como agonista completo em ambos os subtipos receptores (CB1-R e CB2-R), embora com afinidade de moderada a baixa (Zou, Kumar, 2018).

Nesse contexto, por meio de sinalização retrógrada (Figura 2) os endocanabinoides são transportados para o neurônio pré-sináptico via proteínas carreadoras lipofílicas (Castillo *et al.*, 2012). Esse processo revela que o recrutamento diferencial de 2-AG e AEA em neurônios pós-sinápticos está diretamente relacionado ao padrão de atividade pré-sináptica (Puente, Cui, Lassalle *et al.*, 2011).

Dessa maneira, o processo de sinalização endocanabinoide ocorre da seguinte forma: inicialmente, ocorre a liberação de neurotransmissores (excitatórios, como glutamato, ou inibitórios, como GABA) na fenda sináptica. Em seguida, esses neurotransmissores ligam-se a receptores específicos no neurônio pós-sináptico, desencadeando uma resposta celular. Quando essa ativação resulta em despolarização suficiente, há um influxo de íons Ca^{2+} para o interior do neurônio pós-sináptico, o que estimula a síntese "sob demanda" e a liberação de endocanabinoides (como 2-AG e AEA). Essas moléculas lipofílicas difundem-se retrogradamente, atravessando a fenda sináptica e ligando-se a receptores canabinoides no terminal pré-sináptico. Essa ligação desencadeia uma cascata de sinalização intracelular que, em última instância, inibe a liberação adicional de neurotransmissores, regulando assim a atividade sináptica. Esse mecanismo de retroalimentação negativa é crucial para manter o equilíbrio (homeostase) nas redes neuronais, evitando tanto a hiperexcitabilidade quanto a hipoatividade sináptica (Farrelly, Vlachou, Grintzalis, 2021).

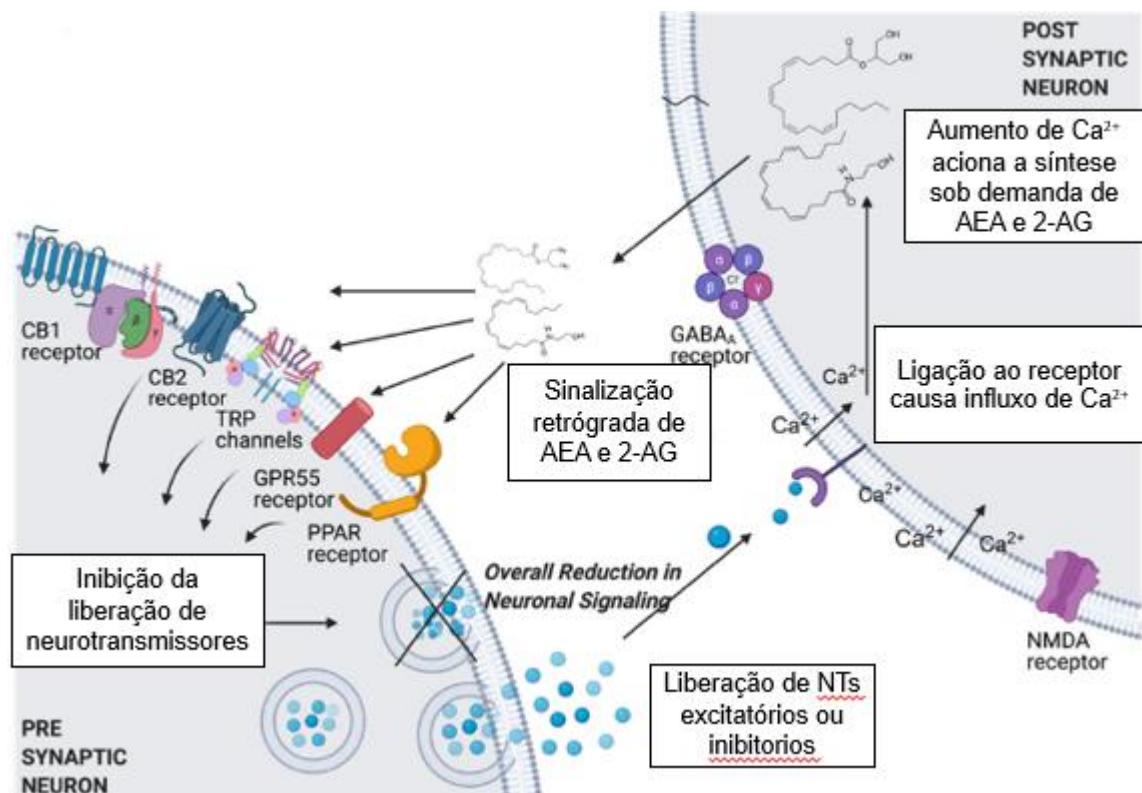


Figura 2- Sinalização retrógrada de endocanabinoides (Adaptado de Farrelly, Vlachou, Grintzalis, 2021).

Com base nessas descobertas, demonstrou-se o quanto o SEC pode atuar em diversas vias e processos metabólicos (Cristino, Bisogno, Di Marzo, 2020). Logo, percebeu-se que esses endocanabinoides atuavam não somente nos CB1-R e CB2-R, como também no receptor vanilóide de potencial transiente (TRPV), no receptor de proliferação-ativação do peroxissomo (PPAR), e nos receptores órfãos GPR55, GPR118 e GPR119 (Huang *et al.*, 2016), mostrando que as suas diversas ações afetam uma rede mais ampla relacionada a todo o sistema endocanabinoide, conhecida como endocanabinoidoma (ECdoma) ou sistema endocanabinoide expandido (Cristino *et al* 2020).

Dessa maneira, o endocanabinoidoma (ECdoma) (Figura 3) compreende um conjunto de moléculas lipídicas bioativas sintetizadas a partir de fosfolipídios membranares, cuja biogênese ocorre através de vias enzimáticas parecidas às responsáveis pela produção dos endocanabinoides clássicos, AEA e 2-AG (Lian, Casari, Falasca, 2022).

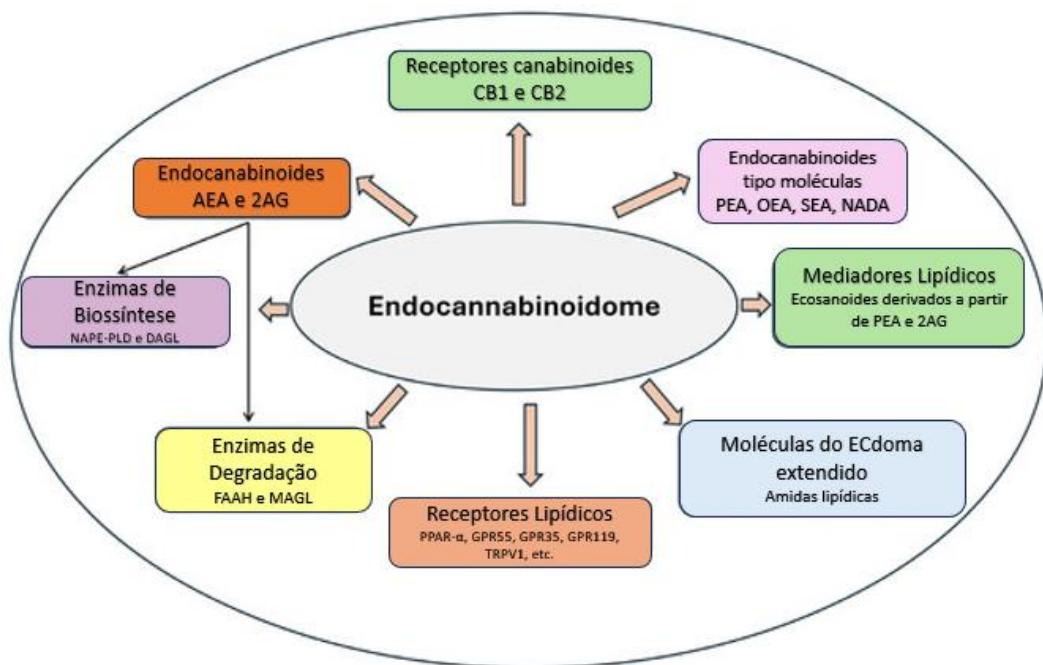


Figura 3- Componentes do endocannabinoidoma. CB1- receptor canabinoide tipo 1; CB2- receptor canabinoide tipo 2; AEA- N-araquidoniletanolamina ou anandamida; 2-AG- 2 araquidonilglicerol; NAPE-PLD- N-acil-fosfatidiletanolamina fosfolipase D; DAGL- diacilglicerol lipase; FAAH- amida hidrolase de ácido graxo; MAGL- monoacilglicerol lipase; PPAR- α - receptor alfa ativado por proliferador de peroxissoma; GPR55, GPR35, GPR119- receptor 55 acoplado à proteína G; TRPV1- receptor de potencial transitório vaniloide 1; PEA- palmitoiletanolamida; OEA- oleoiletanolamida; SEA- estearoiletanolamida; NADA- N-araquidonoil dopamina (Adaptado de Thapa, Ghimire, Warne *et al.*, 2025).

Em suma, estes mediadores lipídicos sofram metabolização por um sistema enzimático especializado, incluindo NAPE-PLD, DAGL, FAAH e MAGL, que regulam sua biodisponibilidade e atividade biológica. Tais processos exercem influência direta em diversos mecanismos fisiológicos, como respostas inflamatórias, regulação metabólica, modulação da percepção dolorosa e manutenção da função da barreira intestinal (Thapa, Ghimire, Warne *et al.*, 2025).

Notavelmente, compostos como a oleoiletanolamida (OEA) e palmitoiletanolamida (PEA), apesar de não apresentarem afinidade significativa pelos receptores CB1R e CB2R, atuam como agonistas do receptor PPAR α , exercendo funções regulatórias cruciais no metabolismo de lipídios, processos inflamatórios e balanço energético (O'Sullivan, 2016). Paralelamente, o receptor

TRPV1 é modulado pela anandamida (AEA) e outros lipídios bioativos, desempenhando papel fundamental na regulação da nocicepção e na mediação de vias pró-inflamatórias (Louis-Gray, Tupal, Premkumar, 2022).

Nesse contexto, diversos mecanismos fisiológicos envolvendo o ECdoma estão sendo elucidados. Um exemplo relevante é a N-oleoil-glicina, um mediador lipídico que demonstrou efeitos neuroprotetores significativos em modelos experimentais de lesão cerebral traumática leve em roedores (Shahen-Zoabi, Smoum, Bingor *et al.*, 2023).

Adicionalmente, evidências recentes têm destacado complexas interações entre os sistemas orexinérgico e endocanabinoidoma, particularmente em processos relacionados à dependência química e respostas ao medo (Deli, Bonab, Khakpay *et al.*, 2022; Ten-Blanco, Flores, Pereda-Pérez *et al.*, 2022). Contudo, o envolvimento preciso da orexina na modulação da resposta ao estresse e nos processos de consolidação memorial permanecem como uma importante questão em aberto na neurociência contemporânea (Deli *et al.*, 2022).

Portanto, a complexidade do endocanabinoidoma que abrange potencialmente centenas de mediadores lipídicos, mais de 20 enzimas envolvidas em processos biossintéticos ou de degradação, e diversos alvos moleculares (Morris, Walder, Kloiber, 2021), evidencia a importância crucial de elucidar seus mecanismos moleculares fundamentais. Essa compreensão é essencial tanto para desvendar sua participação na fisiopatologia de diversas doenças quanto para viabilizar o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

2.2 Patologias acometidas pelo SEC

Nos últimos anos, estudos sobre intervenções genéticas e farmacológicas no Sistema Endocanabinoide (SEC) têm ganhado destaque nas áreas médica, farmacêutica e científica. Devido à sua atuação essencial em processos fisiológicos e fisiopatológicos (Figura 4), o SEC é considerado um alvo promissor para o desenvolvimento de terapias baseadas em agentes canabinérgicos (substâncias ou processos que atuam no SEC), substâncias canabimiméticas (que imitam os efeitos dos cannabinoides endógenos e dos fitocannabinoides no corpo) e derivados cannabinoides. Esses compostos modulam o sistema por meio da inibição de vias

metabólicas ou pela ação sobre seus receptores, promovendo alterações funcionais em seus componentes, efeito potencialmente benéfico em diversas doenças (Lowe, Toyang, Steele *et al.*, 2021).

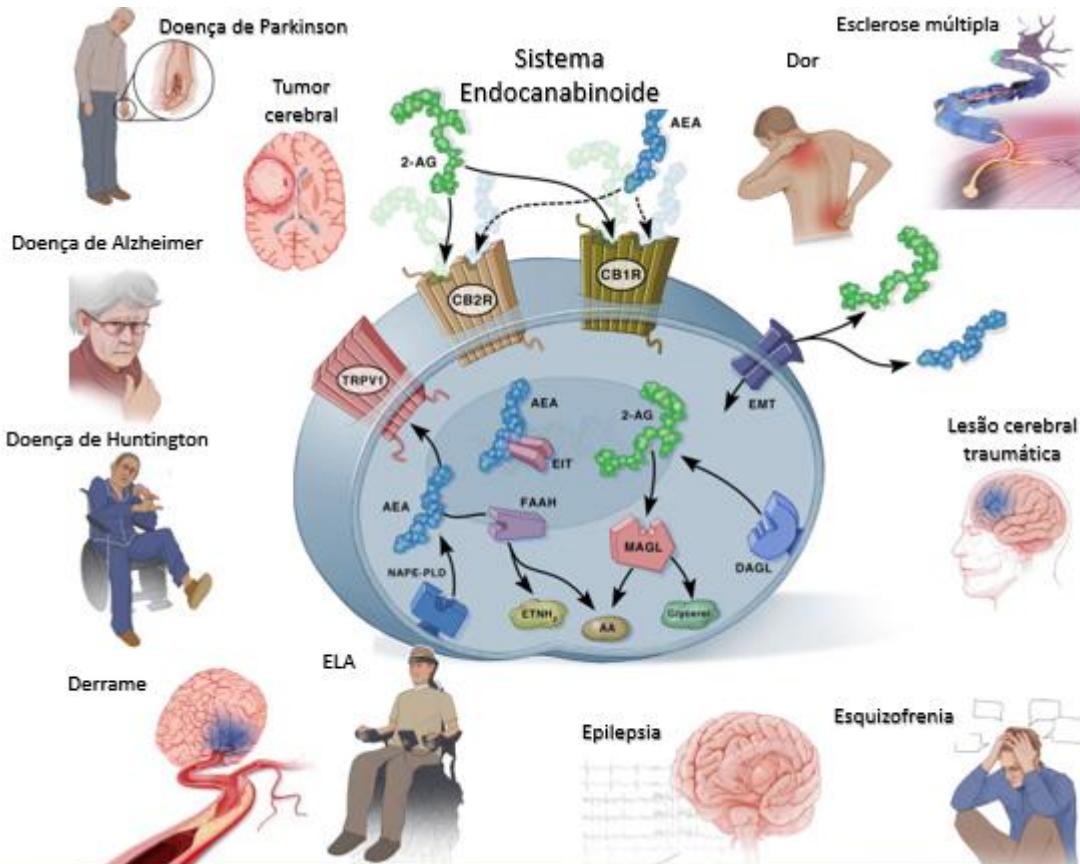


Figura 4- Diagrama esquemático mostra o Sistema Endocanabinoide (SEC) e seus diferentes componentes na fisiologia celular normal. O SEC desregulado, como resultado de lesões ou patologias cerebrais, torna-se ineficiente para manter a homeostase celular e agrava a progressão de diferentes distúrbios neurológicos (Adaptado de Reddy, Grogan, Ahluwalia *et al.*, 2020).

Como consequência, essas ações resultam na expressão/atividade diferencial dos componentes do SEC, o que se manifesta em respostas que modulam transtornos de humor e ansiedade. Por exemplo, o CB1R está envolvido na mediação de recompensas naturais e efeitos prazerosos, o que possibilita o tratamento de diversas condições, tais como o transtorno do pânico (TP), transtorno de ansiedade social (TAS), transtorno de ansiedade generalizada (TAG), transtorno

de estresse pós-traumático (TEPT) e transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) (Blessing, Steenkamp, Manzanares *et al.*, 2015).

Adicionalmente, no controle da dor, o SEC atua por mecanismos como redução da inflamação, regulação da excitabilidade neuronal e inibição de neurotransmissores, atuando no controle da dor crônica, neuropática e também na dor oncológica (Vučković, Srebro, Vujović *et al.*, 2018).

Dessa maneira, condições como asma, doenças autoimunes, como artrite reumatoide, hepatite, colite, esclerose múltipla e condições dermatológicas comuns são processos inflamatórios que podem ser atenuados a partir de efeitos no SEC. Endocanabinoides como AEA e 2-AG, e fitocanabinoides como Δ_9 -THC e CBD, atuam na regulação da ativação dos receptores CB1 e CB2, que estão envolvidos na produção de citocinas, quimiocinas e na função das células do sistema imune (Nagarkatti, Pandey, Rieder *et al.*, 2009).

Além disso, em outras comorbidades como diabetes, doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral, o SEC desempenha um papel crucial, especificamente no controle da pressão arterial, frequência cardíaca, contratilidade cardíaca e inflamação vascular. Nesse contexto, é importante destacar que o CB1R e o AEA estão diretamente envolvidos na vasodilatação e na regulação do tônus vascular (Stanley, Hind, O'Sullivan, 2013).

Por outro lado, no âmbito do câncer, o SEC participa ativamente de diversos processos celulares relacionados à tumorigênese, incluindo angiogênese, apoptose, inflamação, metástase e proliferação (Seltzer, Watters, MacKenzie *et al.*, 2020). Mais especificamente, a ativação do SEC em células neoplásicas regula diversas vias intracelulares de sinalização, como os eixos MEK/ERK, PI3K/AKT/mTOR e cAMP/PKA, os quais estão diretamente envolvidos tanto na promoção do crescimento tumoral quanto na inibição de mecanismos de morte celular programada (Cridge, Rosengren, 2013).

Dessa maneira, comprehende-se que o SEC constitui um sistema molecular e biológico complexo, composto por múltiplos elementos interconectados, que exerce funções regulatórias não apenas em seus próprios mecanismos intrínsecos, mas também em diversos outros sistemas e seus processos fisiológicos (Lowe *et al.*, 2021).

Diante das evidências que associam diversas fisiopatologias a um sistema modulador identificado por meio de estudos com a *C. sativa*, utilização de compostos

bioativos derivados diretamente da planta emerge como uma estratégia terapêutica eficaz, já que fitocanabinoides oferecem um perfil de segurança que está sendo consolidado neste estudo, além de apresentar uma evolução histórica de seu uso medicinal.

2.3 *Cannabis Sativa L.*

2.3.1 Origem e disseminação da planta *Cannabis sativa L.*

A espécie *Cannabis sativa L.* figura entre os primeiros vegetais domesticados pela civilização humana, com registros históricos que remontam à Antiguidade (Figura 5). De acordo com alguns estudos paleobotânicos, a *Cannabis* já estava presente há 11.700 anos, nos territórios da Ásia Central, perto das Montanhas Altai, o que leva à crença de sua origem (Crocq, 2020).

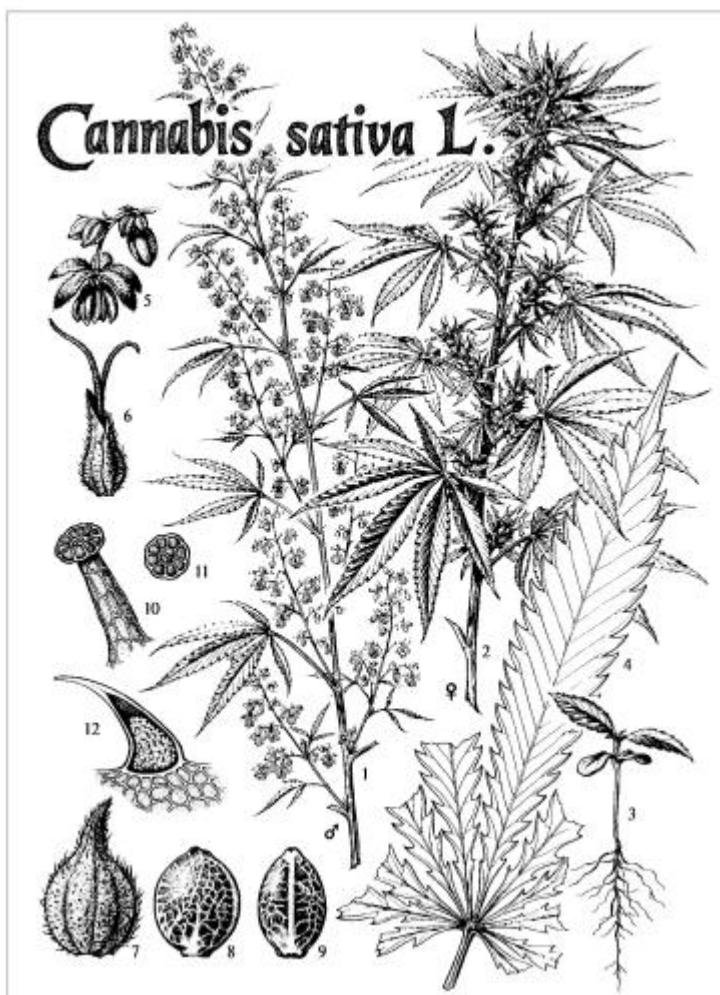


Figura 5- Ilustração gráfica da *Cannabis sativa* L.

1) Parte superior da planta masculina em flor; 2) Parte superior da planta feminina em frutificação; 3) Plântula (seedling); 4) Parte de uma folha composta com onze folíolos (“eleven-fold leaf”); 5) Inflorescência masculina com botões e flor masculina madura; 6) Flor feminina com estigmas destacados; 7) Fruto coberto com bráctea pilosa persistente; 8) Vista lateral do fruto; 9) Vista do fruto de lado (perfil); 10) Tricoma glandular com haste multicelular; 11) Tricoma glandular com haste curta, unicelular e transparente; 12) Tricoma não glandular que contém um cistolito (Adaptado de Vogel, 2017).

A taxonomia da *Cannabis sativa* inclui sua classificação e nomenclatura. Sua classificação está contida no Reino Plantae, Filo Streptophyta, Classe Equisetopsida, Subclasse Magnoliidae, Ordem Rosales, Família Cannabaceae e Gênero *Cannabis*. A família Cannabaceae atualmente consiste em *Cannabis* e *Humulus*, além de oito gêneros anteriormente pertencentes à família Celtidaceae: *Celtis*, *Pteroceltis*, *Aphananthe*, *Chaetachme*, *Gironniera*, *Lozanella*, *Trema* e *Parasponia*. Além disso, essa família agora inclui cerca de 170 espécies (McPartland, 2018).

Já a sua nomenclatura botânica mais amplamente aceita para a *Cannabis* é *Cannabis sativa* L., onde a letra "L." representa Linnaeus, de Carl Linnaeus o pai da taxonomia moderna, que estabeleceu essa denominação científica em sua obra seminal *Species Plantarum* (1753). Posteriormente, em 1785, o biólogo francês Jean-Baptiste Lamarck identificou e descreveu uma segunda espécie distinta - *Cannabis indica* - caracterizando-a como uma variedade de porte reduzido e com propriedades psicoativas mais pronunciadas, em contraste com *C. sativa* L., de estatura elevada e predominantemente fibrosa. O gênero *Cannabis* foi posteriormente ampliado com a descrição de uma terceira espécie por D. E. Janischevsky em 1924- *Cannabis ruderalis*-, uma variedade silvestre adaptada às condições ambientais da Sibéria Ocidental e regiões da Ásia Central (Clarke & Merlin, 2016).

Existe, contudo, um debate científico em curso acerca da classificação taxonômica da *Cannabis*. O processo de domesticação da espécie para fins distintos levou a significativas alterações fenotípicas e fisiológicas nas variedades cultivadas

quando comparadas com seus parentes silvestres. Tais modificações abrangem características morfológicas, perfis químicos, padrões de distribuição geográfica e adaptações ecológicas. Plantas selvagens parecem ser, ou escapes de formas domesticadas, ou o resultado de milhares de anos de ampla troca genética com plantas domesticadas, tornando impossível determinar se populações primitivas ou ancestrais inalteradas ainda existem (Small, 2017).

No entanto, quando analisamos seu uso histórico, evidências arqueológicas provenientes do território chinês atestam sua utilização para fins têxteis desde o quarto milênio antes de Cristo (4.000 a.C.). Concretamente, os antigos chineses empregavam as fibras extraídas do caule desta espécie vegetal na confecção de artefatos diversos, desde cordames e tecidos até suportes para escrita. Como prova disso, exemplares de papel e tecidos manufaturados a partir de *Cannabis sativa* foram identificados no complexo funerário do Imperador Wu (141-87 a.C.), pertencente à dinastia Han Ocidental (Zuardi, 2006).

Outra evidência de sua origem, foi o descobrimento de uma sepultura encontrada em Xinjiang Uygur, datada de 750 a.C., associada à cultura tocariana. Evidências arqueobotânicas revelaram que os restos mortais de um indivíduo do sexo masculino, com aproximadamente 45 anos de idade, possivelmente um xamã, foram encontrados em associação com resíduos vegetais de *Cannabis* contendo elevadas concentrações de Δ_9 -THC. Estudos fitoquímicos e morfológicos subsequentes demonstraram a presença seletiva de estruturas femininas da planta, caracterizadas por maior produção de fitocanabinoides, enquanto as partes masculinas (com menores teores de Δ_9 -THC) haviam sido intencionalmente removidas. Esses achados sugerem práticas de cultivo intencional e manipulação botânica já nesse período histórico, visando potencializar as propriedades psicoativas da planta para fins ritualísticos ou medicinais (McPartland, Hegman, Long, 2019).

Adicionalmente, a determinação precisa da origem geográfica da *Cannabis* permanece uma questão em aberto na literatura científica, sobretudo em função das significativas variações climáticas ocorridas durante os ciclos glaciais e interglaciais ao longo dos anos. De fato, essas flutuações ambientais dificultam a reconstrução paleobiogeográfica precisa da espécie. Não obstante, com base em evidências multidisciplinares que integram dados paleobotânicos, genéticos e arqueológicos, a hipótese mais amplamente aceita atualmente sugere que a Ásia Central constitui a

região mais provável para a origem ancestral e diversificação inicial do gênero *Cannabis* (Clarke & Merlin, 2016).

Em sua etapa conclusiva, o ciclo de disseminação transcontinental da *Cannabis* completou-se quando a espécie atingiu o continente africano e, posteriormente, a América do Sul, com registros históricos documentando sua presença no Chile por volta de 1545. Cabe destacar que a introdução na América do Norte ocorreu tardiamente, somente no início do século XVII (1606), conforme atestam evidências históricas, marcando assim a conclusão de sua disseminação por todo o planeta Terra (Crocq, 2020).

2.3.2 Histórico Medicinal

Segundo registros históricos, a *Cannabis* já era utilizada com fins medicinais na China Antiga, conforme documentado na Pen-ts'ao Ching, considerada a mais antiga farmacopeia conhecida. Compilada no século I d.C., essa obra teve origem em tradições que remontam ao reinado do Imperador Shen-Nung, por volta de 2700 a.C. Entre as aplicações terapêuticas descritas estavam o alívio de dores reumáticas, o tratamento de prisão de ventre, desordens ginecológicas, malária e outras enfermidades (Crocq, 2020).

Em um contexto histórico paralelo, no Egito por volta de 1500 a.C., registros indicam sua utilização tópica no tratamento de processos inflamatórios. Simultaneamente, os assírios documentaram suas propriedades medicinais em tabletes de argila. Posteriormente, no período romano, estudiosos como Plínio, o Velho, Galeno e Dioscórides descreveram o emprego da planta no manejo de afecções dolorosas e inflamatórias, com ênfase especial em artrite e gota. Notavelmente, Galeno, em particular, destacou seus efeitos psicoativos, o que representou um avanço significativo no entendimento sobre suas propriedades farmacológicas (Crocq, 2020).

Adicionalmente, no início da era cristã, o renomado cirurgião Hua T'o (110-207 d.C.), pioneiro na cirurgia chinesa, empregava uma preparação à base de *Cannabis* combinada com vinho como anestésico em procedimentos cirúrgicos (Zuardi, 2006).

Paralelamente, na Índia, a *Cannabis* nativa das planícies himalaias, era utilizada há séculos tanto na medicina quanto em rituais hindus. No Atharva Veda (2000-1400 a.C.), era chamada de Bhanga e reverenciada como "Alimento dos Deuses", enquanto o Sushruta Samhita (século VI d.C.) documentava seu uso terapêutico para doenças fleumáticas, termo utilizado na medicina antiga que se referia a um dos quatro temperamentos básicos, mas não designava propriamente uma patologia específica (Karki & Rangaswamy, 2023).

Foi nesse contexto cultural e farmacológico que o médico anglo-irlandês William O'Shaughnessy (1809-1889) observou pessoalmente sua eficácia no alívio de dores reumáticas e no manejo de sintomas associados a doenças como cólera, tétano e raiva. Durante seu serviço na Índia colonial, documentou a eficácia da *Cannabis* tornando-se o principal responsável pela disseminação de seus usos terapêuticos na Europa (Grotenhermen, Russo, 2002).

Após as comunicações de William B. O'Shaughnessy, médicos europeus e norte-americanos passaram a experimentar a planta na clínica e empiricamente, incorporando extratos e tinturas em terapias para dor, convulsões, cólicas e espasmos. O'Shaughnessy é considerado a figura-chave que reinsere a *Cannabis* na prática médica ocidental a partir de relatos clínicos publicados entre 1840–1843. (Russo, 2017).

Assim, no final do século XIX, a planta aparece em farmacopéias e em inúmeros preparados patenteados (tinctures, elixirs, fórmulas domésticas) usados por médicos e farmacêuticos na Europa e nos EUA, prescrita para enxaqueca, espasmos, dor e problemas gastrointestinais (Bridgeman & Abazia, 2017).

Como resultado direto do interesse no controle e taxação do álcool durante o início do século XX, observou-se um acúmulo progressivo de medidas regulatórias e campanhas sociais que estigmatizaram a *Cannabis*. Nos Estados Unidos, esse processo culminou com a aprovação do *Marijuana Tax Act* em 1937, o qual restringiu severamente seu uso e comercialização, levando a uma redução drástica da presença da planta na prática clínica. Esse marco regulatório representou o início do declínio do uso medicinal regulamentado em diversos países ocidentais (Rathge, 2017).

No Brasil, a planta foi introduzida por africanos escravizados, sendo chamada de "fumo de Angola", posteriormente adotada por populações indígenas e escravizadas. Adicionalmente no século XIX, ganhou reconhecimento médico após

relatos de uso do exército britânico na Índia. Contudo, na década de 1930, a declaração do delegado Dr. Pernambuco em um fórum internacional com 45 países, onde afirmou que a substância era mais perigosa que o ópio, serviu como base para as primeiras políticas proibitivas no país (Carlini, 2006).

Assim, no contexto brasileiro, a *Cannabis* foi inicialmente introduzida por africanos escravizados, sendo denominada "fumo de Angola", sendo posteriormente assimilada por populações indígenas e escravizadas. No século XIX, a planta ganhou reconhecimento médico após a divulgação dos relatos sobre seu uso pelo exército britânico na Índia. Entretanto, na década de 1930, ocorreu uma virada significativa quando o delegado Dr. Pernambuco, em um fórum internacional com 45 países, declarou que a substância era mais perigosa que o ópio, afirmação que serviu como base para as primeiras políticas proibitivas no país (Carlini, 2006).

Somente cinco décadas depois, na década de 1980, é que o Dr. Elisaldo Carlini e sua equipe publicaram os primeiros artigos científicos demonstrando o potencial terapêutico do CBD para o tratamento de epilepsias. Vale destacar que, anteriormente a esses achados, já na década de 1960, o Dr. Raphael Mechoulam, em Israel, havia realizado o isolamento e síntese do canabidiol (CBD), delta-9-THC e outros fitocanabinoides (Cunha, Carlini, Pereira *et al.*, 1980).

Após anos, um marco importante ocorreu em 1996, quando o estado da Califórnia, nos Estados Unidos, se tornou pioneiro na legalização do uso medicinal da *Cannabis* sp. e seus derivados, iniciando assim um processo gradual de adoção do uso medicinal em outros 28 estados (Page & Verhoff, 2006).

Em consonância com a descoberta do Sistema Endocanabinoide (SEC) no início da década de 1990, observou-se que a partir dos anos 2000 houve recuperação do interesse clínico, produtos farmacêuticos à base de canabinoides passaram a ser estudados e, em certos países, aprovados. Paralelamente, a literatura científica cresceu em neurofarmacologia, analgesia, e efeitos antieméticos e antiespásticos (Bridgeman & Abazia, 2017).

Então, no ínicio do século XXI, os Estados Unidos deram início aos primeiros ensaios clínicos com medicamentos à base de canabinoides, entre os quais se destacaram o Marinol® (FDA. NDA 18-651/S-021: Marinol. 2004) e, no Canadá, o nabilone (Dronabinol®), ambos contendo Δ_9 -THC em sua forma sintética ou isolada como princípio ativo. Uma década mais tarde, por volta de 2014, o CBD emergiu como protagonista no cenário médico devido a seu uso bem-sucedido em um caso

complexo de epilepsia refratária, no tratamento de Charlotte Figi, paciente portadora da Síndrome de Dravet (Maa & Figi, 2014).

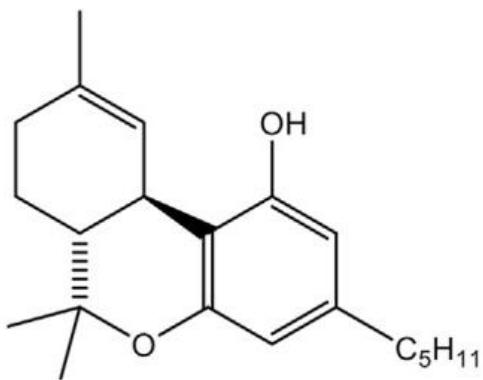
Atualmente, o cenário regulatório brasileiro conta com 23 produtos à base de *Cannabis* aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), conforme dados de 2022. Desse total, 9 são formulados a partir de extratos de *Cannabis sativa* enquanto os 14 restantes têm como princípio ativo o canabidiol (CBD), todos regulamentados pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 327/2019 (Anvisa, 2022).

Contudo, apesar do robusto corpo de evidências farmacológicas e terapêuticas acumuladas, a prescrição da planta ainda enfrenta significativa resistência decorrente de estigmas sociais. Para que seu potencial terapêutico seja plenamente aproveitado, torna-se imperativo superar as barreiras do preconceito, igualmente importante, combater a desinformação que persiste tanto na população geral quanto entre profissionais de saúde.

2.3.3 Fitocanabinoide Δ_9 -THC

O Δ_9 -tetraidrocanabinol (Δ_9 -THC), principal fitocanabinoide psicoativo da *Cannabis sativa* L., possui estrutura lipofílica que favorece sua permeabilidade através da barreira hematoencefálica, determinando seus efeitos no SNC (Russo & McPartland, 2003). Sua fórmula molecular $C_{21}H_{30}O_2$ apresenta uma estrutura química com três anéis: um anel aromático, um anel de ciclohexeno e uma cadeia lateral pentil (Figura 6), o que contribui para sua lipossolubilidade e interação com receptores (Barrales-Cureño, López-Valdez, Reyes *et al.*, 2020).

Sendo assim, o Δ_9 -THC exibe um amplo espectro de atividades farmacológicas. Sua ação é marcadamente estereosseletiva, com o isômero (-)-trans apresentando potência 6 a 100 vezes superior em comparação à forma (+)-trans. Notavelmente, apenas a configuração (-)-trans ocorre naturalmente na planta (Adams & Martin, 1996).



THC

Figura 6- Composição química do fitocanabinoide Δ_9 -THC (Adaptado de Thomas, ElSohly, 2015).

Em relação à sua biossíntese (Figura 7), ela inicia-se com o ácido canabigerólico (CBGA), precursor comum na via metabólica dos cannabinoides vegetais. A conversão enzimática catalisada pela THCA sintase transforma o CBGA em ácido tetraidrocanabinólico (THCA) através de uma reação de ciclização oxidativa. O composto ativo é gerado por descarboxilação termicamente induzida do THCA, processo que elimina um grupo carboxila para formar o Δ_9 -THC e posteriormente sua oxidação o transforma em CBN (canabinol) (Bloemendal, Van Hest, Rutjes, 2020).

Embora tenham propriedades bioquímicas distintas, as formas ácidas dos fitocanabinoides são mais comumente descarboxiladas por meio do calor para produzir os fitocanabinoides neutros, ou seja, a maioria desses fitocanabinoides são formados como ácidos carboxílicos (por exemplo, Δ_9 -THCA, CBDA, CBCA e Δ_9 -THCVA) que são descarboxilados em seus correspondentes neutros, formas como consequência da secagem, aquecimento, combustão ou envelhecimento (Thomas, Elsohly, 2016).

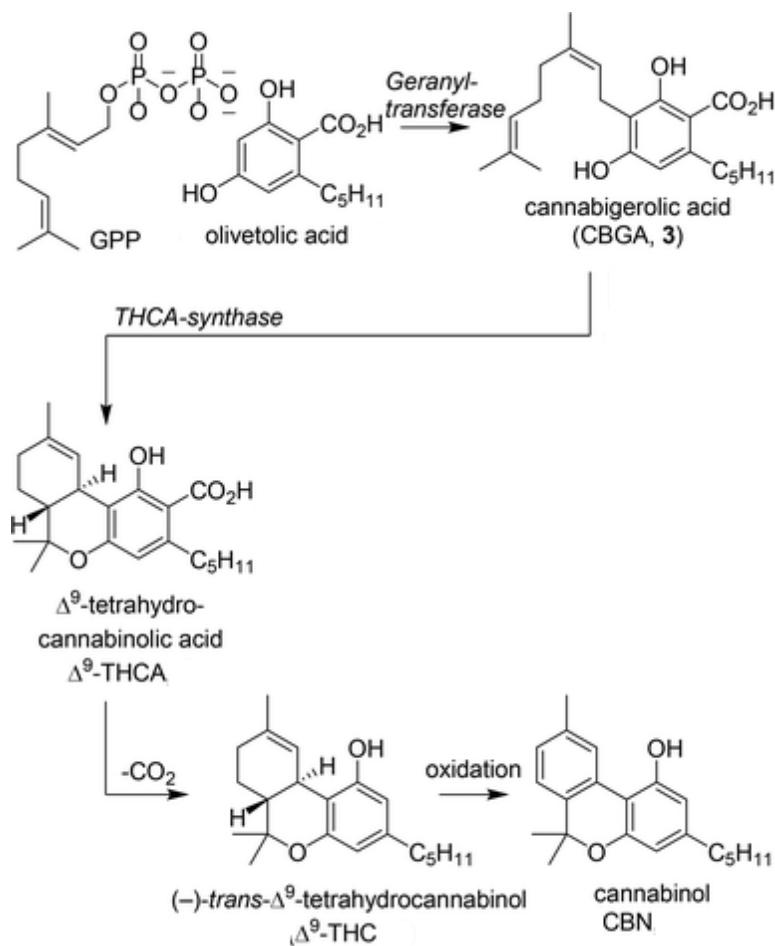


Figura 7- Biossíntese do Δ_9 -tetraidrocanabinol (Δ_9 -THC) (Adaptado de Bloemendaal, Van Hest, Rutjes, 2020).

Após o isolamento e síntese do Δ_9 -THC, a primeira aplicação terapêutica desse sintético foi em distúrbios alimentares de pacientes oncológicos e HIV-positivos (Plasse, Gorter, Krasnow *et al.*, 1991). Estas evidências científicas anteriores confirmaram outras propriedades, como ação mio-relaxante (Kavia, De Ridder, Constantinescu *et al.*, 2010), capacidade broncodilatadora, efeito neuroprotetor antioxidante e atividade analgésica (Rahn & Hohmann, 2009).

Dessa maneira, o Δ_9 -THC atua ligando-se aos CB1R no cérebro, particularmente no hipotálamo, uma região central na regulação do apetite. Essa interação estimula neurônios relacionados à fome e aumenta a liberação de neurotransmissores como a dopamina, intensificando a sensação de prazer ao comer. Além disso, ele eleva os níveis de grelina, o "hormônio da fome", que sinaliza ao cérebro a necessidade de ingestão alimentar (DiPatrizio, 2021).

Sendo assim, essa atividade acontece por conta da sua ligação aos receptores, o Δ_9 -THC atua como agonista parcial dos receptores canabinoides CB1 e CB2, exibindo afinidade moderada por esses sítios de ligação (Pertwee, 2008). Essa característica farmacodinâmica explica seu perfil de efeitos psicoativos menos pronunciado quando comparado a agonistas totais desses receptores, como o Δ_9 -THC sintético (Govaerts, Hermans, Lambert, 2004).

Adicionalmente, em nível neuroquímico, o Δ_9 -THC modula a liberação sináptica de diversos neurotransmissores, incluindo, aumento da atividade dopaminérgica mesolímbica (associado a efeitos euforizantes e de recompensa), regulação da liberação de glutamato (envolvido em processos cognitivos) e potencialização da transmissão GABAérgica (relacionada a efeitos ansiolíticos e anticonvulsivantes) (Castillo, Tolón, Fernández-Ruiz *et al.*, 2010). Entretanto, em doses elevadas, essa modulação pode resultar em efeitos adversos como ansiedade, paranoia e, em modelos experimentais, neurotoxicidade por excitotoxicidade glutamatérgica (Varvel, Lichtman, 2002).

Dessa maneira, quando administrado por via oral, o Δ_9 -THC apresenta baixa biodisponibilidade, geralmente entre 10% e 20%, devido ao extenso metabolismo hepático de primeira passagem. Nesta via, o início dos efeitos ocorre entre 30 a 90 minutos após a ingestão, com duração prolongada que pode se estender por até 12 horas (Huestis, 2007).

Em contraste, a administração por via inalatória (fumada ou vaporizada) apresenta biodisponibilidade significativamente maior, estimada entre 25% a 30%, com início de ação rápido, geralmente dentro de minutos após a inalação. No entanto, a duração dos efeitos é mais curta nesta via, tipicamente de 2 a 4 horas. Estas diferenças farmacocinéticas entre as vias de administração são clinicamente relevantes para o uso terapêutico (Grotenhermen, 2003).

Assim, por conta da sua alta afinidade por lipídios, o Δ_9 -THC é rapidamente distribuído para tecidos altamente vascularizados, como cérebro, coração, pulmões e fígado (Huestis, 2007). Além disso, sua capacidade de se armazenar no tecido adiposo prolonga sua meia-vida, permitindo sua detecção em fluidos biológicos por dias ou semanas após o consumo, especialmente em usuários crônicos (Grotenhermen, 2003).

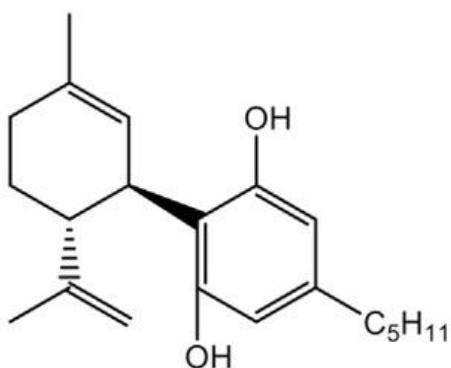
Deste modo, ele é metabolizado no fígado, principalmente pelo sistema de citocromo P450 (CYP450), com destaque para as isoenzimas CYP2C9, CYP2C19 e

CYP3A4 (Huestis, 2007). A biotransformação ocorre em duas etapas principais. Primeiramente, o Δ_9 -THC sofre hidroxilação, sendo convertido em 11-hidroxi- Δ_9 -THC (11-OH-THC), um metabólito psicoativo que pode apresentar maior potência que o THC original na ativação do receptor CB1 (Grotenhermen, 2003). Em seguida, o 11-OH-THC é oxidado a ácido 11-nor-9-carboxi-THC (THC-COOH), um composto farmacologicamente inativo. Esses metabólitos sofrem conjugação, principalmente por glucuronidação, tornando-os mais hidrossolúveis e facilitando sua excreção (Huestis, 2007).

Nesse sentido, sua eliminação e de seus metabólitos ocorrem predominantemente por via fecal (65% a 80%) e urinária (20% a 35%), sendo essa última a mais relevante para testes toxicológicos (Grotenhermen, 2003). Na urina, os metabólitos são detectados principalmente na forma conjugada (THC-COOH-glucuronídeo). Este e outros metabólitos contribuem para o perfil farmacológico complexo da *Cannabis* e suas variações individuais de resposta (Grotenhermen, 2003).

2.3.4 Fitocanabinóide CBD

O canabidiol (CBD) é um fitocanabinóide pertencente à classe dos terpenofenóis, com fórmula molecular $C_{21}H_{30}O_2$ (Figura 8). Estruturalmente, é um isômero do Δ_9 -THC, diferenciando-se pela posição da ligação dupla e pelo arranjo espacial dos átomos. Sua estrutura consiste em um núcleo dibenzopirano modificado, composto por um anel aromático (benzeno) ligado a um grupo pentil e a uma cadeia de cicloexeno parcialmente saturada. Além disso, o CBD possui dois grupos hidroxila fenólicos, que influenciam sua solubilidade lipofílica e sua capacidade de interação com membranas biológicas (Pertwee, 2008).



CBD

Figura 8- Composição química do fitocanabinoide CBD (Adaptado de Thomas, ElSohly, 2015).

Nesse contexto, sua via biossintética (Figura 9) inicia-se com a produção do ácido olivetólico (OLA), um composto fenólico. O OLA é sintetizado a partir da condensação do pirofosfato de geranila (GPP), um monoterpenoide, com o ácido hexanoico, formando a estrutura central dos fitocanabinoides (Gülck & Møller, 2020).

Dessa forma, o OLA é então convertido em ácido canabigerólico (CBGA) pela ação da enzima olivetolato geranyltransferase ou olivetol sintase (OLS). O CBGA é considerado o "canabinoide mãe", pois serve como precursor comum para os principais fitocanabinoides, incluindo THCA, CBDA e CBCA (Luo, Reiter, d'Espaux *et al.*, 2019).

Em seguida, a enzima específica CBDA sintase (CBDAS) catalisa a ciclização oxidativa do CBGA, transformando-o em ácido canabidiólico (CBDA). Essa reação é determinante para a produção de CBD em quimovares ricos nesse fitocanabinoide (Taura, Sirikantaramas, Shoyama *et al.*, 2007).

Por fim, o CBDA, um composto carboxílico, sofre descarboxilação por meio de um processo não enzimático, geralmente induzido por calor (ex.: secagem, aquecimento) ou exposição à luz. Essa reação remove um grupo carboxila (–COOH), convertendo o CBDA em CBD bioativo. Esse mecanismo explica por que o aquecimento da *Cannabis* (como no processo de vaporização) aumenta a biodisponibilidade do CBD (Citti, Linciano, Russo *et al.*, 2019).

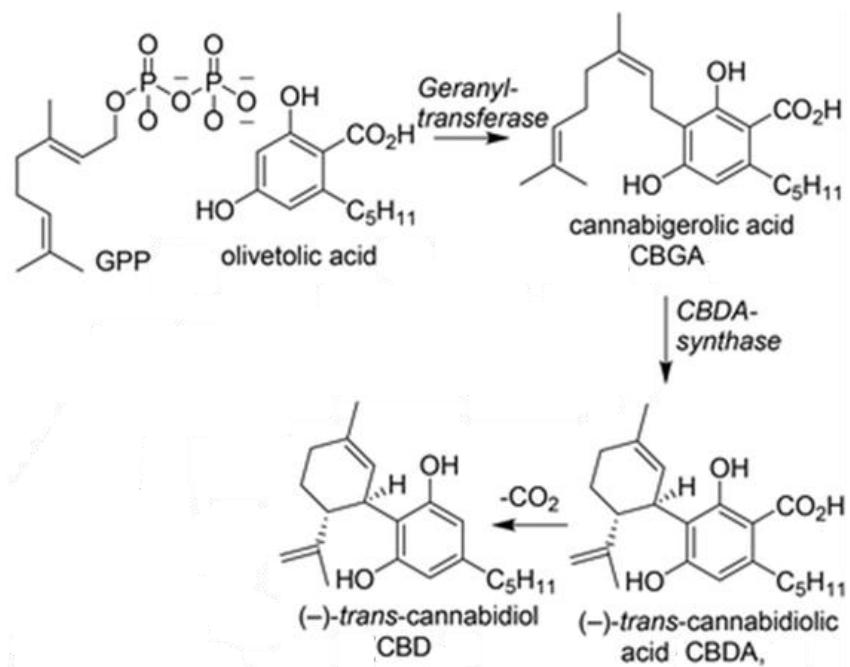


Figura 9- Biossíntese do canabidiol (CBD) (Adapatado de Bloemendaal, Van Hest, Rutjes, 2020).

Ao contrário do Δ₉-THC, o CBD não se liga diretamente ao sítio ortostérico dos receptores CB1 e CB2, mas exerce um efeito modulador indireto sobre o SEC. Estudos demonstram que o CBD antagoniza os efeitos de agonistas canabinoides sintéticos, como o CP-55,940 e o WIN55,212-2, sugerindo um mecanismo alostérico (Pertwee, 2008). Essa modulação ocorre porque o CBD atua como um modulador alostérico negativo (NAM), reduzindo a potência de ligação tanto do Δ₉-THC quanto do 2-AG, sem bloquear completamente a ativação dos receptores (Laprairie, Bagher, Kelly *et al.*, 2015).

Em adição, o CBD inibe a recaptação de AEA, aumentando sua disponibilidade sináptica e prolongando sua ação (Bisogno, Hanuš, De Petrocellis *et al.*, 2001).

Além disso, o CBD pode atuar como antagonista ou agonista inverso, dependendo da concentração, e funciona como um agonista parcial do CB2, podendo explicar seus efeitos anti-inflamatórios e de modulação imunológica (An, Peigneur, Hendrickx *et al.*, 2020).

Assim, é possível perceber que o CBD não exerce seus efeitos somente através dos receptores canabinoides clássicos CB1 e CB2, mas sim por meio de

uma complexa rede de interações com múltiplos sistemas de sinalização celular (Pertwee, 2008).

Como é o caso dos canais TRPV1-4 (receptor potencial transitório vaniloide), onde o CBD atua. Esta ativação do TRPV1 está associada aos efeitos analgésicos e anti-inflamatórios do CBD (Iannotti et al., 2014). Nesse sentido, pesquisas destacam ainda sua ação preferencial no TRPV2, sugerindo um papel distinto na modulação da dor neuropática (De Petrocellis, Ligresti, Moriello et al., 2011).

Adicionalmente, nos receptores acoplados à proteína G (GPCR), o CBD atua como antagonista do GPR55, podendo modular processos inflamatórios e a pressão intraocular (Ryberg, Larsson, Sjögren et al., 2007). Em acréscimo, pesquisas recentes demonstram sua ação nos receptores GPR3, GPR6 e GPR12, sugerindo influência na neuroplasticidade e em processos cognitivos (Swenson, 2025).

Além disso, nos receptores de serotonina (5-HT1A), media efeitos ansiolíticos e neuroprotetores (Peng, Fan, Na et al., 2022). E também apresenta interação com receptores adrenérgicos α 1 e opioides μ/δ , além da afinidade por D2 dopaminérgico, sugerindo papel na modulação da dor e em processos aditivos (De Almeida, Devi, 2020).

Em conclusão, o mecanismo como agonista do receptor PPAR γ está associado a efeitos anti-inflamatórios, melhora no metabolismo de lipídios e glicose, além de apresentar potencial aplicação em síndromes metabólicas (De Almeida, Devi, 2020).

Cabe acrescentar que em relação a sua biodisponibilidade e absorção, a via inalatória (fumada ou vaporizada) apresenta biodisponibilidade média de 31%, resultado da absorção pulmonar direta na circulação sistêmica. Em contraste, a administração oral mostra absorção variável (4-20%) devido ao extenso metabolismo de primeira passagem hepático e baixa solubilidade aquosa (Ujváry & Hanuš, 2016). Em formulações lipídicas podem aumentar esta biodisponibilidade para até 35% em preparações específicas (Millar, Stone, Yates et al., 2018).

Por um lado, na via inalatória, o CBD atinge o pico de forma extremamente rápida, geralmente entre 3 a 10 minutos após a administração. Em contraste, a administração oral apresenta um perfil de absorção mais lento, com o pico sendo alcançado tipicamente entre 1 a 4 horas após a ingestão, variando conforme a formulação (Millar, Stone, Yates et al., 2018).

Por outro lado, a via oromucosal, particularmente na forma de spray, apresenta um perfil intermediário, com tempo para atingir a concentração máxima variando de 1,5 a 4 horas. Esse tempo reflete tanto na absorção através da mucosa oral quanto na porção que é eventualmente deglutida e absorvida pelo trato gastrointestinal (Huestis, 2007).

Então, depois de absorvido, o CBD sofre metabolização que ocorre principalmente no fígado, por enzimas do citocromo P450, principalmente pela CYP2C19 e CYP3A4 mas também pelas CYP1A1, CYP1A2, CYP2C9 e CYP2D6 (Martinez Naya, Kelly, Corna *et al.*, 2024).

Posteriormente, o CBD é convertido primariamente no metabólito ativo 7-hidroxi-CBD (7-OH-CBD). Esse, por sua vez, sofre oxidação adicional, catalisada por enzimas hepáticas, originando o ácido 7-carboxi-CBD (7-COOH-CBD), que representa o metabólito mais abundante no plasma humano, atingindo concentrações aproximadamente cinqüenta vezes superiores às do CBD inalterado e correspondendo a mais de 90% da soma total de CBD e seus metabólitos circulantes (Millar, Stone, Yates *et al.*, 2018).

Sendo assim, na fase II do metabolismo, tanto o 7-OH-CBD quanto o 7-COOH-CBD são predominantemente submetidos a glucuronidação, catalisada por enzimas da família UDP-glucuronosiltransferase (UGT), aumentando a solubilidade dos compostos e facilitando a excreção. Embora a glucuronidação seja a via principal, reações de sulfatação também podem ocorrer, porém menos caracterizadas no caso do CBD (Ujváry & Hanuš, 2016).

Em desfecho, a excreção dos metabólitos ocorre por vias urinária e fecal. Estudos clínicos indicam que, em indivíduos sob uso terapêutico de CBD, o CBD inalterado representa cerca de 12,1% do total de compostos detectados na urina, enquanto seu conjugado O-glucuronídeo corresponde a aproximadamente 13,3% (Jiang, Yamaori, Takeda *et al.*, 2011). Adicionalmente, no que diz respeito à excreção, estudos clínicos revelam que aproximadamente 33% da dose de CBD é eliminada intacta pelas fezes (Yeung, Beers, Jackson *et al.*, 2023).

Em conclusão, esses dados reforçam a importância da consideração das vias de excreção no planejamento de regimes posológicos e na interpretação de testes toxicológicos, especialmente em contextos terapêuticos (Jiang *et al.*, 2011; Yeung *et al.*, 2023).

2.3.5 Outros metabólitos, Quimiotaxonomia e Efeito Comitiva

A *Cannabis* contém uma diversidade de fitoquímicos, que além dos fitocannabinoides incluem alcaloides, terpenos e flavonoides. Os alcaloides, são compostos nitrogenados que, embora presentes em menores concentrações, demonstram potencial farmacológico relevante. Pesquisas recentes indicam que esses metabólitos podem contribuir para a modulação do SNC e apresentar propriedades antimicrobianas (Yadav, Kafle, Ghimire *et al.*, 2023).

Em acréscimo, os terpenos, representados por compostos voláteis, são responsáveis pelas fragrâncias marcantes da *Cannabis* e de outras plantas aromáticas (Booth & Bohlmann, 2019), uma classe diversificada de compostos orgânicos, com um número total estimado em aproximadamente 120. Esses compostos são classificados em subcategorias com base no número de átomos de carbono em sua estrutura molecular, sendo os principais grupos os monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}) e triterpenos (C_{30}) (Radwan, Chandra, Gul *et al.*, 2021).

Assim, os monoterpenos, formados por duas unidades de isopreno (totalizando 10 carbonos), destacam-se por sua volatilidade e aromas característicos, onde além de suas propriedades sensoriais, apresentam atividades farmacológicas relevantes, incluindo efeitos ansiolíticos e anti-inflamatórios (Russo, 2011). O mirceno, terpeno mais abundante na *Cannabis*, confere um odor herbal e terroso e pode potencializar os efeitos sedativos do Δ_9 -THC (Sommano, Chittasupho, Ruksiriwanich *et al.*, 2020).

Já os sesquiterpenos, compostos por três unidades de isopreno (15 carbonos), são menos voláteis que os monoterpenos e geralmente apresentam aromas mais encorpados (Paduch, Kandefer-Szerszeń, Trytek *et al.*, 2007). Além de suas funções ecológicas na defesa vegetal, muitos exibem atividades farmacológicas promissoras. Como o β -cariofileno por exemplo, que demonstra atividade anti-inflamatória através da modulação do receptor CB2 (Gertsch, Leonti, Raduner *et al.*, 2008). Adicionalmente, estudos indicam que o humuleno pode inibir a liberação de histamina, sugerindo potencial aplicação em condições alérgicas (Rogerio, Andrade, Leite *et al.*, 2009).

Por fim, os triterpenos representam a classe estruturalmente mais complexa, com seis unidades de isopreno (30 carbonos). Esses metabólitos secundários desempenham importantes funções na proteção estrutural das plantas (Thimmappa,

Geisler, Louveau *et al.*, 2014). Em acréscimo, pesquisas recentes destacam suas diversas atividades farmacológicas, como a capacidade do lupeol de modular vias inflamatórias através da inibição da NF-κB (Saleem, 2009).

No que concerne aos flavonoides, aproximadamente 20 diferentes estruturas já foram identificadas, incluindo as canflavinas A, B e C. Sua distribuição em plantas tem a função de pigmentação e proteção contra estresses abióticos e bióticos (Chen, Wang, Cheng *et al.*, 2023).

Sob esse prisma, essas substâncias têm despertado particular interesse científico devido às suas marcantes propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Pesquisas recentes demonstram que as canflavinas podem inibir a produção de prostaglandinas e outros mediadores inflamatórios, sugerindo seu potencial terapêutico no manejo de processos inflamatórios crônicos (Rea, Casaretto, Al-Abdul-Wahid *et al.*, 2021).

Já a canflanona, um flavonoide com ação seletiva contra vírus que afetam humanos, como o coronavírus OC43 (HCov-OC43), associado à COVID-19 e a alguns tipos de câncer, destaca-se como uma das moléculas não cannabinoides mais relevantes atualmente em fase de testes clínicos (Lowe, Steele, Bryant *et al.*, 2021).

Nessa perspectiva, em relação a rota de síntese desses compostos (Figura 10), a dos flavonoides inicia-se com a conversão do aminoácido fenilalanina proveniente da via do shikimato. A enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) catalisa sua desaminação, formando ácido cinâmico, um precursor fundamental da via fenilpropanoide (Tariq, Asif, Andleeb *et al.*, 2023).

Em seguida, o ácido cinâmico é hidroxilado pela cinnamato-4-hidroxilase (C4H), gerando p-cumarato, que é ativado pela 4-cumarato-CoA ligase (4CL) para formar p-cumaril-CoA. Essa molécula serve como grupo “anel B” da estrutura flavonoide (Yu, Song, Lin *et al.*, 2023).

Adicionalmente, através da via do acetato, o acetil-CoA é convertido em malonil-CoA, provendo os blocos de dois carbonos que constituem o “anel A” dos flavonoides (Tariq, Asif, Andleeb *et al.*, 2023). Esses dois fragmentos, p-cumaril-CoA e três unidades de malonil-CoA, são condensados pela enzima chalcona sintase (CHS), membro da superfamília PKS tipo III, formando naringenina chalcona (esqueleto C₆–C₃–C₆) (Yu, Song, Lin *et al.*, 2023).

Assim, a chalcona isomerase (CHI) catalisa a conversão dessa chalcona para naringenina, onde o precursor da naringenina é convertido em apigenina pela enzima

flavona sintase (FNS). Esse passo representa a transição de uma flavanona (naringenina) para uma flavona (apigenina), e é essencial para a formação dessa classe específica de flavonoides com ampla ocorrência vegetal e variadas funções biológicas (Petrussa, Braidot, Zancani *et al.*, 2013).

Na mesma direção, a biossíntese dos terpenos (Figura 10) inicia-se com a formação dos precursores isoprenóides: isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero dimetilalil difosfato (DMAPP). Esses compostos são gerados por duas rotas metabólicas: Via MVA (mevalonato), no citossol, a partir da condensação de acetil-CoA e Via MEP (metil-erythritol fosfato), nos plastídios, originada a partir de gliceraldeído-3-fosfato e piruvato (Câmara, Perestrelo, Ferreira *et al.*, 2024).

Sendo assim, a partir da formação desses precursores, ocorrem reações de condensação "cabeça-cauda", formando intermediários como: geranil difosfato (GPP, C₁₀), precursor dos monoterpenos; farnesil difosfato (FPP, C₁₅), que forma os sesquiterpenos; e geranil-geranil difosfato (GGPP, C₂₀), responsável pela síntese de diterpenos. Adiante, os triterpenos (C₃₀) derivam de uma condensação "cauda-cauda" de dois FPP, formando esqualeno por ação da esqualeno sintase (SQS) (Wei, Yang, Peng *et al.*, 2023).

Posteriormente, esses intermediários são então convertidos na vasta diversidade de terpenos através da ação de enzimas específicas chamadas terpeno sintase (TPS). O GPP é ciclizado ou rearranjado (via carbocáton estável) por monoterpeno sintase, frequentemente dependentes de Mg²⁺ ou Mn²⁺, originando os monoterpenos compostos como limoneno, linalol, pineno e β-mirceno. Além desses, nos sesquiterpenos, o FPP é transformado por sesquiterpeno sintase (sesquiTPS) em estruturas cíclicas ou acíclicas complexas, como humuleno ou germacreno, e também o β-cariofileno (Câmara, Perestrelo, Ferreira *et al.*, 2024).

Por outro lado, a partir de squaleno (C₃₀), no caso dos triterpenos, a oxidosqualeno ciclase (ex.: lanosterol sintase) catalisa reações complexas de ciclização que envolvem rearranjos de hidreto e migração de grupos metila, gerando estruturas como esteróis, saponinas e outros triterpenóides (Thimmappa, Geisler, Louveau *et al.*, 2014).

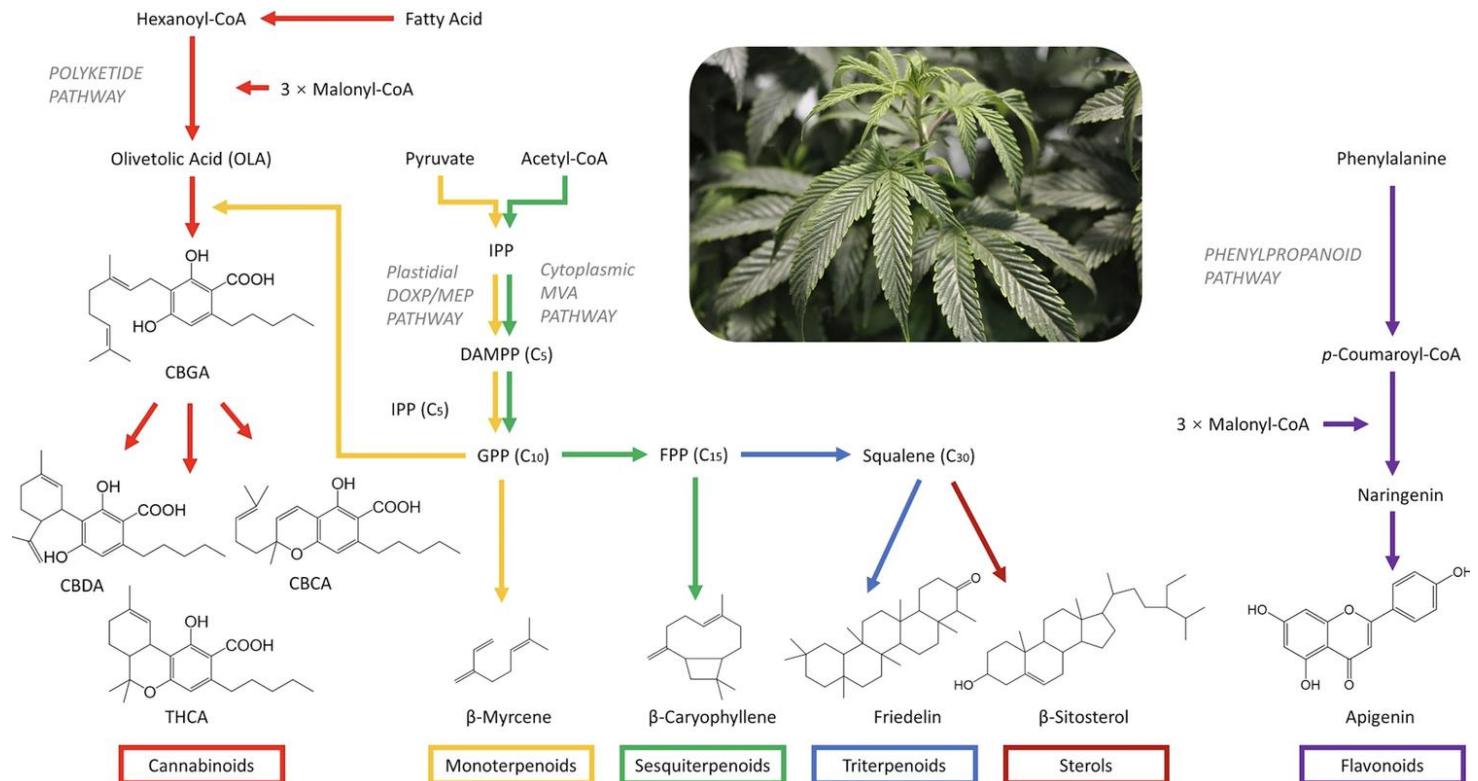


Figura 10- Vias de biossíntese de fitocannabinoides, terpenos, esteróis e flavonoides
(Adaptado de Jin et al., 2020).

Tal como evidenciado, além de uma infinidade de compostos, a planta ainda apresenta algumas variedades comumente classificadas em quimiotipos distintos, baseados na concentração relativa de seus principais fitocannabinoides: Δ_9 -tetraidrocanabinol, canabidiol e canabigerol (Pavlovic, Nenna, Calviet *et al.*, 2018).

Sendo assim, o tipo 1, caracterizado por altos níveis de Δ_9 -THC ($>0,5\%$) e baixas concentrações de CBD ($<0,3\%$), representa a forma psicoativa mais comumente associada ao uso adulto (Russo, 2019). No contexto medicinal, este quimiotipo tem sido utilizado no manejo de dor crônica, náuseas associadas à quimioterapia e espasticidade em esclerose múltipla, embora seus efeitos psicoativos possam limitar sua aplicação em alguns pacientes (MacCallum & Russo, 2018).

Já o tipo 2, com proporções equilibradas de Δ_9 -THC e CBD, oferece um perfil farmacológico distinto, onde o CBD parece modular os efeitos psicoativos do Δ_9 -THC. Essa combinação tem demonstrado particular eficácia no tratamento de epilepsias refratárias, distúrbios de ansiedade e dor neuropática, com menor

incidência de efeitos adversos comparado às variedades ricas em Δ_9 -THC (Pamplona, Da Silva, Coan, 2018).

Em acréscimo, variedades do tipo 3, com predominância de CBD (>0,5%) e níveis mínimos de Δ_9 -THC (<0,3%), têm ganhado destaque no tratamento de condições que requerem efeitos terapêuticos sem psicoatividade. Estudos clínicos destacam seu potencial como agente ansiolítico, antipsicótico e anti-inflamatório, sendo particularmente relevante para pacientes pediátricos com síndromes epilépticas (Devinsky, Patel, Cross *et al.*, 2018).

Por fim, o tipo 4 é caracterizado por altos níveis de CBG, embora menos comum, tem despertado interesse científico considerável. Como precursor biossintético tanto do Δ_9 -THC quanto do CBD, o CBG apresenta propriedades farmacológicas distintas, incluindo atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e potencial neuroprotetor (Nachnani, Raup-Konsavage, Vrana, 2021).

Em síntese, esta classificação quimiotípica é fundamental para a seleção de cultivares adequados a aplicações específicas, permitindo otimizar os benefícios terapêuticos enquanto se minimizam efeitos adversos. A padronização desses quimiotipos também é crucial para garantir reproduzibilidade em pesquisas clínicas e no desenvolvimento de formulações farmacêuticas baseadas em fitocanabinoides (Lewis, Russo, Smith, 2018).

Sendo assim, a complexidade química da *Cannabis sativa*, decorrente da combinação desses diversos grupos de metabólitos secundários, confere à planta um perfil farmacológico singular. Essa diversidade molecular possibilita interações sinérgicas entre os diferentes componentes, ampliando o espectro de possíveis aplicações terapêuticas, evidenciando o efeito comitiva ou *entourage effect* (Russo, 2019).

Nessa perspectiva, Shimon Ben-Shabat, Raphael Mechoulam e colaboradores (1998), foram os pioneiros ao sinalizarem pela primeira vez que as diversas ações farmacológicas da *Cannabis* tinham relação com a sinergia de seus compostos. Ficou claro que os fitocanabinoides, juntamente com alcaloides, terpenos, flavonoides, entre outros, podiam aumentar o índice terapêutico da planta, fazendo com que as interações produzissem sinergia com relação ao tratamento da dor, inflamação, depressão, ansiedade, dependência, câncer e até mesmo infecções fúngicas e bacterianas.

Cumpre acrescentar que inicialmente, quatro mecanismos básicos do efeito comitiva foram propostos, (i) efeitos multialvo; (ii) efeitos farmacocinéticos, tais como melhor solubilidade ou capacidade de biodisponibilidade; (iii) interações de agentes que afetam a resistência bacteriana; e (iv) modulação de eventos adversos (Wagner, Ulrich-Merzenich, 2009).

Primeiramente, se define “efeitos multialvo” como aqueles em que múltiplos constituintes de um extrato atuam de forma cooperativa em vários alvos. A exemplo, o extrato rico em Δ_9 -THC evidencia efeito antiespástico superior ao Δ_9 -THC isolado e o canabidiol com outros constituintes contribuem para o aumento do transporte de anandamida através da membrana cerebral (Wagner, Ulrich-Merzenich, 2009).

Um segundo mecanismo demonstra que a administração concomitante com polifenóis do extrato melhora significativamente a solubilidade, taxa de absorção e biodisponibilidade de princípios ativos pouco biodisponíveis, mantendo sua ação farmacológica primária enquanto potencializa sua exposição. O terceiro mecanismo descrito, ocorre quando antibióticos são combinados a agentes vegetais que antagonizam mecanismos de resistência, permitindo sinergia terapêutica antibacteriana. E no quarto mecanismo, os autores afirmam que constituintes do extrato podem eliminar ou neutralizar efeitos adversos de outros componentes (Wagner, Ulrich-Merzenich, 2009).

Em momento subsequente, Russo (2011) compilou evidências pré-clínicas/observacionais e propos que terpenos poderiam modular THC/CBD (analgesia, anti-inflamatório, ansiolítico) por vias não-canabinoides (serotonina, adenosina, TRP, GABA).

Com o passar dos anos, estudos clínicos e não clínicos foram sendo feitos demonstrando que na dor oncológica, a proporção THC:CBD (nabiximols) superou placebo, enquanto Δ_9 -THC isolado não foi superior (Yanes, McKinnell, Reid *et al.*, 2019). Já na dor neuropática cinco terpenos aliviaram a dor pela adenosina A2A espinal (*in vivo/in vitro/in silico*) (Schwarz, Keresztes, Bui *et al.*, 2023).

Em contrapartida, revisões sistemáticas em dor crônica mostraram benefícios modestos e aumento de tontura/sedação, sem separar bem “full-spectrum” versus isolados, não evidenciando sinergia em humanos (McDonagh, Morasco, Wagner *et al.*, 2022).

Decorre daí que existem sinergias/quase-sinergias específicas, dependentes de alvos (CB1, A2A, TRP, 5-HT), tecido/tipo celular, doses e proporções

(terpeno:THC) (LaVigne, Hecksel, Kereszte *et al.*, 2021); (Raz, Eyal, Zeitoun *et al.*, 2023), fazendo com que ensaios *in vitro/in vivo* sustentem o efeito sinérgico mas pouco testado diretamente em humanos (Christensen, Rose, Cornett *et al.*, 2023).

Ademais, o efeito comitiva pode agir por diferentes mecanismos, além de prevenir a degradação do metabólito ativo, ou afetar sua ligação a um receptor (Anand, Pacchetti, Anand *et al.*, 2021).

Em contrapartida, a modulação de eventos adversos, como a capacidade do CBD atenuar os efeitos psicomiméticos do Δ_9 -THC em alguns cenários, observa-se inconsistência nas evidências de ensaios clínicos modernos, reforçando a necessidade de estudos dedicados sobre desfechos de segurança (McDonagh *et al.*, 2022).

Diante dessa lacuna científica, a segurança farmacológica é fundamental, e os ensaios toxicológicos representam a base para a identificação de potenciais riscos estabelecendo parâmetros seguros para a utilização desses compostos (De Aquino, Diniz, 2025).

2.3.6 Ensaio Toxicológico e Legislação

Apesar do reconhecimento do potencial terapêutico da *Cannabis*, ela permanece classificada, em outros contextos socioculturais, como substância de risco quando consumida em doses elevadas. Existe a necessidade de estudar a sua toxicologia, permitindo mensurar sua segurança e eficácia (Lindblom, 2019).

Embora os estudos toxicológicos sobre *Cannabis* estejam em acensão, a maioria concentra-se na via inalatória. Pesquisas pioneiras avaliaram a inalação de Δ_9 -THC isolado (Thompson *et al.*, 1973), enquanto trabalhos recentes investigaram os efeitos da fumaça inalada na função pulmonar (Haidar, Traboulsi, Eidelman, 2023) e na sua modulação imunológica (Preteroti, Wilson, Eidelman *et al.*, 2023).

Por outro lado, os estudos envolvendo administração oral frequentemente utilizam compostos sintéticos, que podem apresentar perfis farmacológicos distintos dos naturais, com maior potencial de interações medicamentosas e efeitos tóxicos (Gingrich *et al.*, 2023).

Evidencia-se então, uma lacuna significativa na literatura toxicológica sobre *Cannabis*, particularmente no que diz respeito aos estudos agudos e crônicos, por

via oral e com extratos vegetais integrais padronizados. Os primeiros estudos fundamentais, como o realizado por Phillips, Turk e Forney em 1971 em ratos, estabeleceram os parâmetros toxicológicos agudos do Δ_9 -THC isolado, demonstrando uma DL50 de 28,6 mg/kg por via intravenosa, 372 mg/kg por via intraperitoneal e 661 mg/kg por via oral. No entanto, estas investigações pioneiras limitaram-se ao Δ_9 -THC purificado, não refletindo o perfil de segurança de preparações naturais.

Assim, com o passar dos anos, pesquisas vêm demonstrando o elevado perfil de segurança dos derivados canabinoides. O estudo de Filipiuc e colaboradores (2023), utilizando um extrato certificado rico em Δ_9 -THC em, estabeleceu parâmetros importantes de segurança, revelando uma DL50 oral superior a 5000 mg/kg em modelos roedores, o que corresponde a aproximadamente 806 mg/kg em humanos. Esta investigação, não identificou quaisquer manifestações clínicas relevantes de toxicidade ou alterações histopatológicas significativas, mesmo nas doses mais elevadas.

Complementando essas descobertas, estudos conduziram uma análise comparativa utilizando três diferentes métodos de extração (maceração, decocção e sonicação) em camundongos. Utilizando a OECD 423, os pesquisadores observaram completa ausência de mortalidade e de alterações morfológicas nos órgãos vitais, particularmente fígado e rins, em ambos os sexos. Estes resultados solidificam a compreensão sobre a ampla margem de segurança dos extratos canabinoides (Balafrej, Skalli, Benaich *et al.*, 2023).

Aprofundando a investigação, El-Mernissi e colaboradores (2024) focaram em óleos essenciais obtidos por hidrodestilação, compostos principalmente por voláteis e terpenos aromáticos. Seus achados demonstraram ausência completa de toxicidade aguda mesmo na dose máxima testada de 2000 mg/kg, sem qualquer anomalia detectável nos órgãos internos.

Sendo assim, o estudo mais abrangente até o momento, inovou ao avaliar tanto efeitos agudos quanto crônicos (6 meses em roedores e 9 meses em coelhos) de um extrato integral de *Cannabis sativa*. Os resultados foram favoráveis, sem registrar alterações comportamentais, fisiológicas ou histopatológicas, seja por administração oral ou intraperitoneal (Costa, Gasparotto, Garcia *et al.*, 2025).

Em síntese, esses achados obtidos a partir de estudos de toxicidade conduzidos nos últimos anos, indicam que a *Cannabis sativa*, sob determinadas

condições de uso e padronização, apresentam um perfil de segurança consistente, com valores de DL50 elevados e ausência de alterações significativas nos parâmetros avaliados. Contudo, esses achados ressaltam a carência de estudos adicionais, especialmente com diferentes vias de administração e diferentes tipos de extratos, fundamentais para embasar processos regulatórios mais robustos e seguros (De Souza, Henriques, Limberger, 2022).

No cenário regulatório brasileiro, a Resolução RDC nº 327/2019 da Anvisa representa um marco regulatório no Brasil para produtos de *Cannabis sativa* destinados a fins medicinais. Esta resolução define os requisitos para registro de produtos contendo canabinoides, estabelece critérios para prescrição médica, regulamenta o cultivo para fins medicinais e científicos, determina padrões de qualidade e controle para produção, além de criar categorias específicas para esses produtos, exigindo rigoroso controle sanitário, comprovação de qualidade, segurança, eficácia e boas práticas de fabricação (Anvisa, 2019).

No que se refere à prescrição médica, profissionais habilitados, mediante receituário específico, podem prescrever produtos com Δ_9 -THC superior a 0,2% restrita a pacientes em estado terminal ou sem alternativas terapêuticas viáveis. Com as atualizações trazidas pela RDC nº 660/2022, ampliou-se a variedade de formas farmacêuticas e formulações permitidas, incluindo produtos de origem natural, não se restringindo apenas a compostos sintéticos ou purificados (Anvisa, 2022).

Quanto ao cultivo para fins medicinais e científicos, essa RDC não autorizava cultivo comercial no país, restringindo-o a instituições de pesquisa e produção de medicamentos mediante autorização prévia da Anvisa, com controle rigoroso sobre origem, rastreabilidade e destinação da matéria-prima. Entretanto, as diretrizes mais recentes, incorporadas por meio da RDC nº 660/2022, abriram a possibilidade de cultivo comercial, desde que em conformidade com normas específicas de licenciamento, segurança e rastreabilidade, ainda em processo de consolidação regulatória (Anvisa 2019, 2022).

Em relação aos padrões de qualidade e controle de produção, a norma exige o cumprimento de Boas Práticas de Fabricação (BPF), incluindo métodos validados de análise de concentração de fitocanabinoides, controle de impurezas e contaminantes, além da realização de estudos de estabilidade que garantam a manutenção das características químicas e farmacológicas do produto durante todo o prazo de validade. As atualizações normativas reforçaram esses requisitos,

determinando justificativa técnico-científica detalhada para os teores de CBD e Δ_9 -THC, bem como a apresentação de dados robustos de segurança, mesmo quando a comprovação de eficácia seja baseada majoritariamente em literatura científica e não em estudos clínicos próprios no Brasil (Anvisa, 2022).

Por fim, a RDC cria categorias específicas para esses produtos, diferenciando-os de medicamentos convencionais. Nessa classificação, a exigência de comprovação de eficácia clínica é flexibilizada, permitindo que a segurança e uso terapêutico sejam respaldados por dados da literatura científica e experiência de uso documentada. A RDC nº 335/2020 complementou essas disposições ao permitir a importação, por pessoa física, de produtos derivados de *Cannabis* mediante prescrição médica e cadastro prévio na Anvisa, ampliando o acesso dos pacientes às terapias à base de *Cannabis* (Anvisa, 2019, 2020, 2022).

Sendo assim, os avanços na pesquisa toxicológica, que estabelecem a segurança e eficácia do produto, demonstram ser fundamentais para embasar decisões regulatórias, estabelecer doses seguras, definir parâmetros de qualidade, orientar protocolos clínicos e garantir a segurança dos pacientes.

Embora os estudos recentes demonstrem um perfil de segurança favorável para os derivados canabinoides, a contínua expansão da pesquisa toxicológica permanece crucial. A regulamentação baseada em evidências, como exemplificado pela RDC 327, deve evoluir em paralelo com os avanços científicos, garantindo assim o acesso seguro e eficaz a esses produtos terapêuticos promissores (Filipiuc *et al.*, 2023, Costa *et al.*, 2025), promovendo inovação terapêutica, sem deixar de proteger a saúde pública e fomentar pesquisas adicionais.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliação do perfil toxicológico *in silico* e *in vivo* sob a investigação toxicológica não-clínica aguda e do grau de segurança e eficácia de extratos da planta *Cannabis sativa* L. contendo os fitocanabinoides Δ_9 -Tetraidrocanabinol e Canabidiol.

3.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o perfil de fitocannabinoides presente no extrato integral de *Cannabis sativa* L. rico em Δ_9 -tetraidrocanabinol e do extrato integral de *C. sativa* rico em canabidiol;
- Avaliar as características farmacológicas e toxicológicas – ADMET, PROTOX e Pass online, a partir do smile string do Δ_9 -tetraidrocanabinol e do canabidiol por meio de ensaios *in silico*;
- Avaliar a atividade comportamental e motora através da triagem farmacológica de camundongos Swiss que receberam o extrato de *Cannabis sativa* L. rico em fitocannabinoides Δ_9 -tetraidrocanabinol e de camundongos Swiss que receberam extrato de *C. sativa* L. rico em fitocannabinoides canabidiol;
- Realizar o ensaio toxicológico não-clínico agudo (dose única) do extrato de *Cannabis sativa* L. rico em fitocannabinoides Δ_9 -tetraidrocanabinol e do o extrato de *C. sativa* L. rico em fitocannabinoides canabidiol em camundongos Swiss, com base na OECD 423, seguido das análises bioquímica, hematológica e histopatológica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Substância Teste

O primeiro ingrediente farmacêutico ativo (IFA) de origem vegetal é um extrato de *Cannabis sativa* rico em ríco em Δ_9 -THC de espectro completo (THC 61,4%, CBD 3,7%, totalizando uma proporção de 16,8:1 THC:CBD)

O segundo ingrediente farmacêutico ativo (IFA) é um extrato de *Cannabis sativa* rico em CBD de espectro completo (CBD 57,4%, THC 6,5%, totalizando uma proporção de 8,9:1 CBD:THC) e o veículo (óleo de milho) foram fornecidos pela Associação Brasileira de Apoio à Cannabis Esperança (ABRACE), obtidos a partir de uma extração hidroalcoólica com álcool de cereais em sistema Soxhlet.

4.2 Análise Química do Extrato Integral de *Cannabis sativa* rico em fitocanabinoides CBD e Δ_9 -THC por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – HPLC

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é amplamente empregada para a separação, identificação e quantificação de compostos presentes em uma mistura complexa, utilizada para fornecer resultados quantitativos dos compostos presentes na amostra (Brighenti, Pellati, Steinbac *et al.*, 2017).

Nesse estudo, essa técnica analítica foi realizada pela ABRACE, associação de cultivo que cedeu os extratos de acordo com termo de colaboração.

Seu princípio baseia-se na passagem de uma fase móvel líquida sob alta pressão através de uma coluna contendo fase estacionária, onde os analitos interagem de forma diferenciada conforme suas propriedades físico-químicas, resultando em distintos tempos de retenção. O eluato é detectado por sistemas específicos, como UV-visível ou espectrometria de massas, produzindo um cromatograma representativo da composição da amostra. Devido à sua alta sensibilidade e precisão, a HPLC é amplamente aplicada em análises farmacêuticas, biológicas e ambientais (Hussein, 2025).

Sendo assim, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), confirma a majoritariedade do fitocanabinoide CBD e Δ_9 -THC, em sua concentração (mg/g), além de mostrar a presença de outros fitocanabinoides bem como algumas formas ácidas. Desse modo, utilizar outro método como cromatografia gasosa (cg) não seria possível devido à alta temperatura atingida no processo. Como dito anteriormente, as formas ácidas dos fitocanabinoides são mais comumente descarboxiladas por meio do calor para produzir os fitocanabinoides neutros. Portanto, obter um perfil de metabólitos confiáveis no material vegetal por cromatografia gasosa não seria possível (Thomas, Elsohly, 2016).

Dada a composição complexa dos compostos naturais presentes na amostra, um aspecto primordial para a identificação precisa e quantificação confiável dos analitos é a otimização das condições de separação. Nesse contexto, os métodos de HPLC oferecem uma boa alternativa (Brighenti *et al.*, 2017).

4.3 Análises Computacionais *In Silico*

A predição *in silico* baseia-se no uso de ferramentas computacionais para inferir características biológicas, farmacológicas e toxicológicas de compostos químicos, dispensando, em um primeiro momento, a necessidade de ensaios laboratoriais. Essa metodologia emprega modelos matemáticos e técnicas de simulação, como docking molecular, dinâmica molecular e análises QSAR, possibilitando a antecipação das interações entre moléculas e seus alvos biológicos, contribuindo para a triagem e o aperfeiçoamento de potenciais candidatos a fármacos de maneira mais ágil, econômica e eticamente sustentável (Gupta, Pal, Kumar *et al.*, 2024).

Todas as análises *in silico* foram feitas em colaboração com a professora Doutora Micheline Freire Donato e o professor Doutor Abrahão Alves de Oliveira Filho.

4.3.1 Predição ADMET utilizando AdmetSAR

Os parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos possíveis (ADMET – Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) foram calculados com o objetivo de analisar se a substância possui toxicidade significativa ou não, a partir do SMILE do fitocanabinoide majoritário da substância, o Δ_9 -THC (SMILES STRING CCCCCCc3cc(O)c2C1C=C(C)CCC1C(C)(C)Oc2c3) e o CBD (SMILE STRING CCCCCCCC(C)c3cc(OC(=O)CCCCN(CC)CC)c2C1=C(CCCC1)C(C)(C)Oc2c3)

Assim, os parâmetros analisados pela ferramenta admetSAR foram: absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade. Esses parâmetros identificam, permeabilidade na barreira hematoencefálica, permeabilidade à Caco-2, absorção no intestino, substratos e inibidores das enzimas do complexo citocromo P450 (CYP) e inibidores de transporte renal de cátions (Yang, Lou, Sun *et al.*, 2019).

4.3.2 Predição da toxicidade química utilizando a ferramenta ProTox II

A plataforma ProTox-II (https://tox-new.charite.de/protox_II/) utiliza abordagens baseadas em similaridade molecular e algoritmos de aprendizado de

máquina para estimar diferentes parâmetros de toxicidade. Entre eles, destacam-se a toxicidade aguda, a toxicidade em órgãos-alvo, efeitos clínicos adversos, eventos moleculares iniciadores (MOE), vias de desfechos tóxicos (Tox21), além de múltiplos outros indicadores toxicológicos e de toxicidade em alvos secundários (Banerjee, Eckert, Schrey *et al.*, 2018).

Essa ferramenta foi utilizada para calcular possíveis resultados de previsão de toxicidade oral do fitocanabinoide majoritário da substância utilizada, através do nome da molécula disponibilizado no PubChem®. Sendo possível predizer se o composto pode causar diferentes tipos de toxicidades, entre elas, hepatotoxicidade, carcinogenicidade, imunotoxicidade, mutagenicidade e citotoxicidade, além de predizer se a molécula é ativa para alvos em vias de sinalização de receptores nucleares.

4.3.3 Previsão da atividade farmacológica e vias moleculares utilizando a ferramenta Passonline

Já a ferramenta PASS, Prediction of Activity Spectra for Substances (Previsão do Espectro de Atividade de Substâncias), permite prever possíveis atividades biológicas de moléculas como os fitocanabinoides CBD e Δ_9 -THC, a partir de formatos com SMILES ou MOL. Essa ferramenta prediz uma gama de alvos, como alvos moleculares, atividades antimicrobianas e anticâncer, moduladores metabólicos e do Sistema Nervoso Central (SNC) (Filimonov, Rudik, Dmitriev *et al.*, 2020).

4.4 Procedimento Experimental *In Vivo*

4.4.1 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss (*Mus musculus*), machos e fêmeas pesando de 25-40 g, com 42 a 60 dias de vida, provenientes do Biotério de Reprodução e Experimentação de Animais do Laboratório de Ensaios Toxicológicos (LABETOX), devidamente regulamentado e registrado junto ao IPeFarM, sob a responsabilidade técnica da médica veterinária Dra. Roberta Nunes Parentoni,

CRMV 1281, localizado nas instalações do IPeFarM, na Universidade Federal da Paraíba. Todos os animais foram agrupados em gaiolas de polietileno, mantidos sob condições controladas de temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo claro-escuro de 12 horas, vermifugados, tendo livre acesso à ração (tipo pellets) e água potável disponível em garrafas graduadas de polietileno, com bicos em aço inox, colocada nas grades metálicas das gaiolas na sua parte superior.

4.4.2 Ensaio toxicológico agudo

Os estudos de toxicidade aguda foram baseados nas diretrizes da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD 423) que preconiza a condução de toxicologia não clínica e estudos de segurança farmacológica para o desenvolvimento de medicamentos (Figura 11) (OECD 2001).

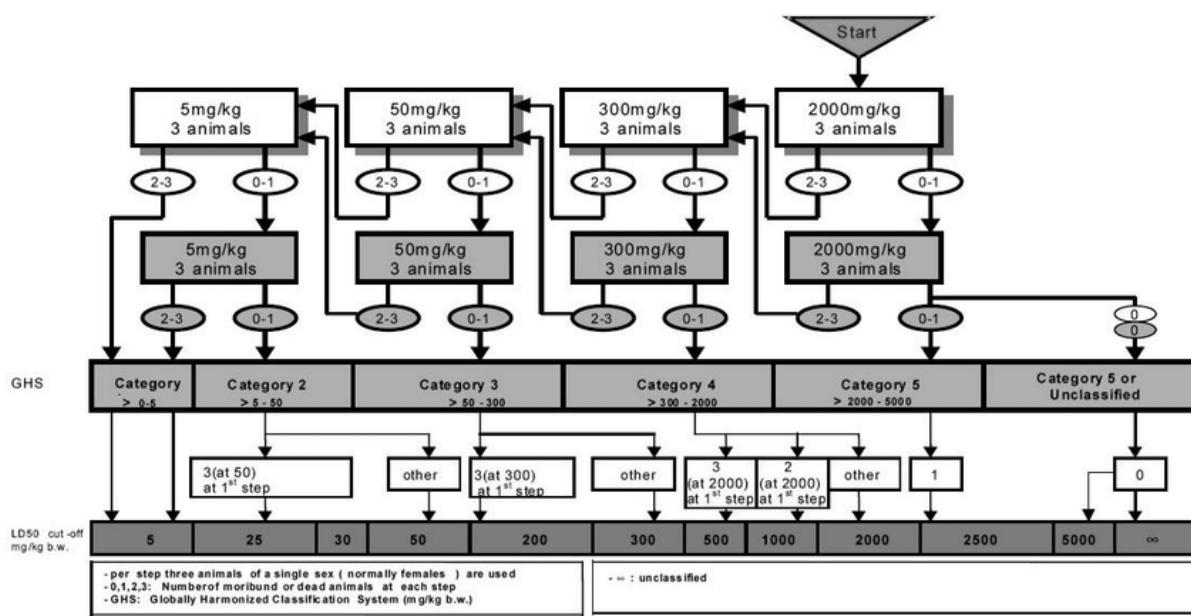


Figura 11- Algoritmo para procedimento de ensaio de toxicidade aguda com dose inicial de 2000 mg/Kg (OECD 423, 2001).

Após a aprovação do projeto na Comissão de Ética no Uso de Animais (protocolo 6364140223), camundongos Swiss, sendo 3 machos e 3 fêmeas por grupo, receberam a dose de 2000 mg/Kg por via oral (gavagem) do extrato de *Cannabis* rico em fitocanabinoides CBD e Δ_9 -THC, diluído em 2 mL do veículo (óleo de milho). Após a administração, foram observados os efeitos gerais apresentados

pelos animais nos intervalos de 30, 60, 120, 180 e 240 minutos no primeiro dia e uma vez ao dia, sempre no mesmo horário, nos 13 dias seguintes, com o objetivo de rastrear possíveis alterações comportamentais, sugestivas de atividade sobre o Sistema Nervoso Central e Sistema Nervoso Autônomo (SNA), utilizando-se protocolo experimental, elaborado pelo Laboratório de Psicofarmacologia (IPeFarM/UFPB) e descrito por Almeida *et al.* (1999).

Em adição, um grupo com 6 animais (3 machos e 3 fêmeas) recebeu 2 mL do veículo de diluição (óleo de milho) permanecendo como grupo controle veículo, além de mais 3 animais por sexo, que receberam 2 mL de solução salina, permanecendo grupo controle. Diariamente, foram observados o consumo de água, a ingestão de ração além de evolução ponderal semanal.

Diante disso, os parâmetros observados foram: sinais tóxicos de caráter geral, efeitos sobre a locomoção e comportamento. Ao fim do período de observação, todos os animais sobreviventes foram eutanasiados por injeção de cetamina (300 mg/Kg) e xilazina (30 mg/Kg), segundo recomendação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e em seguida necropsiados. Em adição à diretriz aplicada neste experimento (OECD 423), após a eutanasia, foram feitas análises bioquímicas e hematológicas do sangue e análise morfológica macroscópica dos órgãos, seguidos de análise histopatológica.

4.5 Parâmetros Avaliados

4.5.1 Avaliação Comportamental e Motora

Os animais tratados e controles foram avaliados antes da administração da substância e no dia da finalização do experimento. No aparelho de campo aberto, avaliou-se durante 180 segundos, sua movimentação espontânea (ambulação) registrada pelo número de cruzamentos, com as quatro patas, entre as divisões de campo; o número de comportamentos de autolimpeza; de levantar-se; e o número de bolos fecais como índice de estresse (Carlini *et al.*, 1986).

4.5.2 Triagem Farmacológica

A triagem farmacológica comportamental é um método preliminar para avaliar os efeitos potenciais da substância teste no SNC e SNA, observando parâmetros comportamentais em animais, permitindo caracterizar suas as ações centrais (Almeida *et al.* 1999). Foi realizada a triagem farmacológica após a administração da substância, onde os parâmetros comportamentais foram observados nos intervalos: 30, 60, 120, 180, 240 minutos, 24h pós e 48h pós quando necessário.

Podem ser observados alterações estimulantes do SNC como, movimentos intensos de vibrissas, ambulação aumentada, convulsões, ou depressoras como, analgesia, catatonia, perda do reflexo auricular e corneal, dentre outros.

4.5.3 Consumo de Água, Ração e Evolução Ponderal

A ingestão de água e ração foi monitorada em animais machos e fêmeas ao longo de 14 dias de experimento. O peso dos animais foi registrado em três momentos específicos: tempo 0 (T0), correspondente ao início do estudo; tempo 1 (T1), no sétimo dia; e tempo 2 (T2), no décimo quarto dia. Com base nesses valores, foi realizada a avaliação da evolução ponderal, calculando-se a variação de peso em termos percentuais em relação ao peso inicial (*peso basal*). O cálculo da variação ponderal foi realizado utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Variação ponderal (\%)} = \frac{\text{Peso final (T2)} - \text{Peso inicial (T0)}}{\text{Peso inicial (T0)}} \times 100$$

Os dados obtidos foram, então, submetidos à análise estatística para identificar alterações significativas ao longo do período experimental.

4.5.4 Parâmetros Hematológicos

O sangue de todos os animais, incluindo grupo tratado, grupo controle veículo e grupo controle salina, totalizando 30 animais, foi retirado através de punção braquial e levado à centrífuga para separação da série vermelha e branca. As análises hematológicas foram feitas em todos os animais do experimento, totalizando do estudo da série vermelha (eritrograma), branca (leucograma) e contagem de plaquetas. No eritrograma foi realizada a contagem de hemácias,

determinação do hematócrito, da hemoglobina, do volume corpuscular médio (VCM), da hemoglobina corpuscular média (HCM), além da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM). No leucograma foi feita a contagem global dos leucócitos e contagem da diferenciação celular. Foi utilizado o Analisador Hematológico Automático URIT-3000 Vet Plus de uso veterinário da marca MHLab. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média.

4.5.5 Parâmetros Bioquímicos

As análises bioquímicas foram realizadas em amostras de soro. As dosagens de albumina, glicose, lactato, uréia, colesterol, HDL, LDH, triglicerídos, fosfatase alcalina e as transaminases: aspartato amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT) foram realizadas no analisador bioquímico automatizado CHEMWELL-T. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média.

4.5.6 Exame Anatomopatológico

Todos os animais, incluindo os grupos tratados, grupo que recebeu o veículo (óleo de milho) e grupo que recebeu solução salina, totalizando 30 animais, foram eutanaziados por injeção de cetamina (300 mg/Kg) e xilazina (30 mg/Kg), segundo recomendação do CONCEA, e em seguida necropsiados, submetidos a exames macroscópicos. Foi efetuada a consecutiva ressecção e pesagem do coração, pulmões, rins direito e esquerdo, baço, fígado, estômago, intestino e sistema reprodutor. A medição da largura e altura foram coletadas do coração, pulmões, rins direito e esquerdo, baço, fígado, estômago. Após 48 horas de fixação, foram obtidas amostras necessárias para processamento histopatológico, empregando-se técnica de inclusão em parafina e coloração em hematoxilina-eosina (HE). As imagens foram capturadas usando óptica especializada com ampliação de 10x, acoplada a uma câmera Nikon.

4.5.7 Planejamento de Medidas para Diminuir Dor, Estresse ou Outro Sofrimento

Para diminuir o sofrimento dos animais foram respeitados os tempos limites de exposição do animal aos estímulos dos testes. De acordo com o CONCEA, se for constatado sinais claros de sofrimento, é necessário realizar o fim humanitário, decisão ética de interromper a vida do animal para evitar sofrimento desnecessário, mesmo que ele ainda esteja vivo, mas em estado irreversível ou grave.

4.6 Análises Estatísticas

As análises foram realizadas utilizando o GraphPad Prism 8.0. Todos os dados foram analisados por ANOVA bidirecional, seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett, e apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). Foi considerado como significativo os testes que apresentaram nível de significância menor que 5% ($p<0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DELTA-9 TETRAIDROCANABINOL (Δ_9 -THC)

5.1.1 Ensaios *In Silico* Δ_9 -THC

Os estudos não clínicos *in silico* representam uma abordagem metodológica relevante no desenvolvimento de fármacos, destacando-se por sua eficiência temporal, redução de custos operacionais e ausência de implicações éticas associadas a pesquisas *in vitro* e *in vivo*. Esses métodos oferecem benefícios significativos tanto às necessidades regulatórias quanto aos requisitos para avaliações de risco. Adicionalmente, essas ferramentas computacionais possibilitam a avaliação preditiva da toxicidade de compostos, permitindo a identificação prévia de potenciais riscos toxicológicos e auxiliando na determinação de dosagens adequadas para etapas subsequentes de investigação experimental (Parthasarathi, Dhawan, 2018).

Nesse contexto, a ferramenta AdmetSAR (tabela 1) calcula as propriedades físico-químicas e as relaciona com a farmacocinética do composto. Elucidando assim o processo de absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade da substância estudada no corpo humano (Ogidigo, Anosike, Nwodo *et al.*, 2018).

Já a ferramenta PROTOX II (tabela 2) atua na predição de vários desfechos de toxicidade, como toxicidade aguda, hepatotoxicidade, citotoxicidade, carcinogenicidade, mutagenicidade, imunotoxicidade, alvos de toxicidade e vias de resultados adversos a partir da Tox21 (métodos mais eficientes para prever a toxicidade de substâncias químicas definidos em colaboração com agências federais dos EUA) (Banerjee *et al.*, 2018).

Além dessas, a ferramenta Pass online (tabela 3) faz a predição dos espectros de atividade biológica de compostos orgânicos com base nas fórmulas estruturais disponíveis comparando compostos com atividades biológicas conhecidas, gerando uma lista de possíveis efeitos com escores de probabilidade (Pa = probabilidade de

ser ativo, P_i = probabilidade de ser inativo) (Filimonov, Lagunin, Gloriozova *et al.*, 2014).

Das 3 ferramentas utilizadas, 2 delas (AdmetSar e PROTOX) evidenciam que o composto pode ultrapassar a barreira hematoencefálica. Quando a substância apresenta penetração na barreira hematoencefálica, efeitos colaterais podem ser observados no SNC (El-Mernissi, El Meniyi, Zouhri *et al.*, 2024).

Dessa forma, as 3 ferramentas demonstraram a probabilidade do composto analisado, Δ_9 -THC, ser substrato ou inibidor de algumas CYPs. No AdmetSAR (tabela 1) a molécula de Δ_9 -THC apresentou 72% de possibilidade de ser substrato para o complexo CYP450 3A4, enquanto na ferramenta Pass online (tabela 3) essa possibilidade foi de aproximadamente 78%, onde estudos confirmam que as enzimas CYP2C9, CYP2C19 e CYP3A4 catalisam a maioria das hidroxilações dos fitocanabinoides (Zendulka, Dovrtelová, Nosková *et al.*, 2016).

No entanto, enquanto a plataforma AdmetSAR (tabela 1) calcula a probabilidade de 75% do complexo CYP2C9 não ser substrato, a Pass online prediz 90% de chance da CYP450 2C9 ser substrato para o Δ_9 -THC. Isso demonstra que o ensaio *in silico*, faz uma predição, podendo corresponder ou não aos ensaios *in vitro* e *in vivo*.

Ao mesmo tempo que o AdmetSAR (tabela 1) demonstra 76% de chance da substância inibir a CYP2C19, a plataforma Pass online (tabela 3) mostra 87% de probabilidade dessa CYP2C19 ser substrato ao invés de inibidor.

Interessantemente, ensaios *in vitro* demonstraram que os principais metabólitos do Δ_9 -THC, 11-hidroxi-delta-9-tetra-hidrocannabinol (11-OH-THC) e 11-nor-9-carboxi-delta-9-tetra-hidrocannabinol (THC-COO-Gluc), seu glucoronídeo conjugado, inibiram competitivamente várias enzimas P450, entre elas CYP2B6, CYP2C9 e CYP2D6 (Nasrin, Watson, Perez-Paramo *et al.*, 2021).

Diante dessa fato, a ativação/inibição ocasionada por fitocanabinoides pode afetar o metabolismo de fármacos mediados por esses CYPs (Zendulka *et al.* 2016), ocasionando interações medicamentosas que já foram relatadas no meio científico (Doohan, Oldfield, Arnold, *et al.*, 2021).

Além disso, evidências *in vitro* demonstram que o CBD e o Δ_9 -THC atuam como inibidores reversíveis de múltiplas isoformas do sistema enzimático citocromo P450 (CYP) (Bansal, Zamarripa, Spindle *et al.*, 2023). Por isso, correlacionar informações obtidas através de ferramentas *in silico* é de suma importância para

compreender os dados obtidos, onde futuramente, serão utilizados em testes regulatórios, como é o caso deste estudo.

Outra informação relevante em relação ao complexo CYP450, é a probabilidade de 100% de ativação das aromatases, trazida pela ferramenta PROTOX (tabela 2). Sabe-se que a aromatase é uma enzima do tipo citocromo P450 (CYP19) que desempenha um papel crucial na conversão de androgênios em estrogênios e pode estar envolvida em vários processos fisiológicos (Simpson & Davis, 2001).

Primeiramente, constatou-se que Δ_9 -THC estimula as células independentemente das vias da aromatase (Takeda, Yamamoto & Watanabe, 2009). Posteriormente, foi identificado que a molécula, além de reduzir a expressão da aromatase e do receptor de estrogênio α (ER α), induziu apoptose e interrompeu a progressão do ciclo celular, destacando seu potencial efeito antitumoral via modulação da aromatase e receptor de estrogênio (Amaral, Trouille, Almeida *et al.*, 2021).

Além disso, o composto apresentou probabilidade de ser mais substrato (85%) do que inibidor (72%) da glicoproteína P (gp-P), uma molécula de transporte especializada na remoção de moléculas estranhas, que desempenha função na excreção de alguns fármacos e de seus metabólitos, como também na resistência de alguns tumores a fármacos quimioterápicos (Katzung, Vanderah, 2022).

Porém, outros estudos revelaram que Δ_9 -THC não é substrato nem inibidor de gp-P (Chen, Unadkat, Mao, 2021), mostrando um conflito de resultados que se torna existente dependendo da interação analisada.

Em adição, sabe-se que a análise *in silico* é uma ferramenta de predição, onde trabalhos confirmam que as interações medicamentosas *in vivo* entre esses fitocanabinoides, inibidores e indutores de gp-P são improváveis. Sugerindo que gp-P não modula a distribuição cerebral e fetal ou a absorção intestinal desses fitocanabinoides em humanos (Chen *et al.*, 2021). Por isso, estudos futuros são necessários para determinar se o Δ_9 -THC é substrato e/ou inibidor de outros transportadores.

Por outro lado, a plataforma PROTOX (tabela 2) traz pontos de toxicidade com alta probabilidade de atividade, como a toxicidade respiratória (90% de probabilidade) e imunotoxicidade (99% de probabilidade). Relatos na literatura sugerem que uma deleção direcionada simultânea de CB1R e CB2R pode resultar

na exacerbação da reatividade imunológica, sugerindo um papel dos endocanabinoides na regulação negativa da função imunológica (Karmaus, Chen, Crawford *et al.*, 2011), mas não há indícios de imunotoxicidade causada pela molécula.

Nesse contexto, a toxicidade respiratória está associada ao uso inalado do composto, quando avaliado em estudos clínicos. Uma ampla gama de efeitos negativos sobre sintomas respiratórios são relatados (Khoj, Zagà, Amram *et al.*, 2024), diferentemente do uso utilizado neste estudo.

Em adição, a plataforma Pass online (tabela 3) apresenta 97% de chance do Δ_9 -THC apresentar atividade redutora, confirmado parte dos seus efeitos neuroprotetores e anti-inflamatórios, em modelos *in vitro* e *in vivo*, o Δ_9 -THC modula negativamente o processo inflamatório (Miller, Bonawitz, Ostrovsky, 2020). Ademais, modelos *in vitro* demonstram que a molécula impede a ativação de inflamasomas (Suryavanshi, Zaiachuk, Pryimakentre *et al.*, 2022), confirmando sua ação antioxidante.

Além disso, a plataforma PROTOX (tabela 2) traz como resultado 100% de probabilidade do Δ_9 -THC ser receptor de hidrocarboneto arila (AhR), um fator de transcrição ativado por múltiplos ligantes fisiológicos, envolvido no metabolismo de xenobióticos, com papéis importantes na saúde e na doença (Barroso, Mahler, Fonseca-Castro *et al.*, 2021). Como citado anteriormente, estudos investigam se esses receptores podem atenuar a inflamação pulmonar induzida pela fumaça da *Cannabis* (Wilson, Gorgani, Heimbach *et al.*, 2025), trazendo assim uma abordagem sobre inalação, diferentemente da forma aqui utilizada.

Em acréscimo, a ferramenta AdmetSAR (tabela 1) traz informações importantes quanto à natureza não biodegradável da molécula. Fitocanabinoides como o Δ_9 -THC e CBD, apresentam natureza lipofílica (Gaoni & Mechoulam, 1964), o que dificulta sua biodegradação e remoção em estações convencionais de tratamento de água. Seu principal metabólito, THC-COOH, apresenta alta persistência ambiental, o que pode indicar potencial de contaminação ambiental prolongada (How & El-Din, 2021).

Diante desse achado, isso pode estar relacionado a alta toxicidade em abelhas (sem estudos específicos) e *Tetrahymena pyriformis*, um protozoário ciliado não patogênico de vida livre, que é amplamente utilizado como bioindicador de toxicidade aquática, devido à sua alta sensibilidade a xenobióticos (Bonnet, Guiraud,

Dusser, 2005). Assim, esses organismos podem provavelmente acumular metabólitos do Δ_9 -THC, já que a molécula demonstra alta persistência em ecossistemas aquáticos

Dessa maneira, a alta probabilidade de toxicidade em peixes, mostra que o Δ_9 -THC pode ser tóxico para embriões de vertebrados aquáticos (Chatzimitakos, Chousidis, Leonardos, 2022).

Em contrapartida, uma pesquisa utilizando o extrato integral da planta não evidenciou impactos adversos no desenvolvimento e na viabilidade embrionária, além de ter promovido a melhoria da capacidade locomotora nas larvas de zebrafish (Licitra, Martinelli, Petrocchi Jasinski *et al.*, 2021).

Por fim, a ferramenta PROTOX (tabela 2) calculou a dose letal (DL50) que causa a morte de 50% da população em 482 mg/kg e classe IV na classificação de toxicidade, e o AdmetSAR (tabela 1) calculou a DL50 em 2.594 mol/Kg e classe III na classificação de toxicidade GHS (Sistema Globalmente Harmonizado), dados importantes para a realização da avaliação toxicológica aguda.

Em suma, esses dados juntamente com resultados de estudos que determinam a CI50 *in vitro* (concentração inibitória de 50%) e a DL50 *in vivo* disponíveis na literatura, foram utilizados para definir a dose inicial do teste toxicológico agudo de acordo com a OECD 423.

5.1.1.1 AdmetSAR Δ_9 -THC

Tabela 1- Propriedades de classificação ADMET, calculadas no software admetSAR, para a substância $C_{21}H_{30}O_2$ (delta-9-tetraidrocanabinol).

Modelo	Resultado	Probabilidade
Absorção		
Barreira Hematoencefálica	BBB+	0,9685
Absorção Intestinal Humana	HIA+	0,9949
Permeabilidade Caco-2	Caco2+	0,7607
Substrato da P-glicoproteína	Substrato	0,8458
Inibidor da P-glicoproteína	Inibidor	0,7191
	Não inibidor	0,5548
Distribuição		
Localização Subcelular	Mitocôndria	0,5191
Metabolismo		

Substrato do CYP450 2C9	Não substrato	0,7522
Substrato do CYP450 3A4	Substrato	0,7199
Inibidor do CYP450 2C19	Não inibidor	0,7683
Excreção		
Toxicidade		
Toxicidade AMES	Não tóxico (AMES)	0,9132
Carcinógenos	Não carcinógenos	0,8947
Toxicidade em Peixes	Alta toxicidade (FHMT)	0,9381
Toxicidade em Tetrahymena pyriformis	Alta toxicidade (TPT)	0,9993
Toxicidade em Abelhas	Alta toxicidade (HBT)	0,8178
Biodegradação	Não biodegradável	0,9725
Toxicidade Oral Aguda	Classe III	0,7739
Absorção		
Solubilidade Aquosa	-4,3219	LogS
Permeabilidade Caco-2	1,7903	LogPapp, cm/s
Toxicidade		
Toxicidade Aguda em Ratos	2,5940	LD ₅₀ , mol/kg
Toxicidade em Peixes	-0,1100	pLC ₅₀ , mg/L
Toxicidade em Tetrahymena pyriformis	1,7781	pIGC ₅₀ , µg/L

Fonte: Dados da autora em colaboração com o prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho, 2023. Resultado considerado: acima de 70% de probabilidade.

5.1.1.2 ProTox Δ₉-THC

Tabela 2- Propriedades de classificação ProTox II, calculadas para a substância C₂₁H₃₀O₂ (delta-9-tetraidrocanabinol).

Categoria	Alvo Biológico	Predição	Probabilidade
Toxicidade orgânica	Toxicidade respiratória	Ativo	0.90
Pontos finais de toxic	Imunotoxicidade	Ativo	0.99
Pontos finais de toxic	Barreira hematoencefálica (BBB)	Ativo	0.92
Pontos finais de toxic	Ecotoxicidade	Ativo	0.62
Pontos finais de toxic	Toxicidade nutricional	Ativo	0.52
Tox21 - Vias de sinalização de receptores nucleares	Receptor de hidrocarboneto arila (AhR)	Ativo	1.0
Tox21 - Vias de sinalização de receptores nucleares	Aromatase	Ativo	1.0
Tox21-Vias de resposta ao estresse	Potencial da Membrana Mitocondrial (MMP)	Ativo	0,99
Eventos moleculares iniciadores	Receptor GABA (GABAR)	Ativo	0,64
Metabolismo	Citocromo CYP2C9	Ativo	0,61
Dose Letal (LD50)	482 mg/kg	-	-

Classificação de Toxicidade	Classe IV	-
Fonte: Dados da autora em colaboração com o Prof. Dra. Micheline Freire Donato, 2023. Resultado considerado: acima de 70% de probabilidade.		

5.1.1.3 PassOnline Δ_9 -THC

Tabela 3- Predição dos Espectros de Atividade (PASS) do Delta-9-tetraidrocanabinol ($C_{21}H_{30}O_2$).

Pa	Pi	Atividade
0,973	0,002	Redutor
0,926	0,004	Substrato do CYP2A
0,920	0,003	Substrato do CYP2B6
0,920	0,003	Substrato do CYP2A6
0,903	0,004	Substrato do CYP2C9
0,885	0,003	Substrato do CYP2C8
0,885	0,004	Substrato do CYP2B
0,884	0,005	Substrato do CYP2C
0,879	0,004	Substrato do CYP2C19
0,837	0,004	Antidiscinético
0,770	0,008	Substrato do CYP1A
0,776	0,017	Substrato do CYP3A4
0,757	0,010	Substrato do CYP3A5
0,762	0,018	Substrato do CYP3A
0,745	0,004	Inibidor da expressão de MMP9
0,718	0,008	Substrato do CYP1A2
0,733	0,035	Antieczemático
0,701	0,026	Potencializador da expressão de TP53
0,716	0,045	Substrato do CYP2J

Fonte: Dados da autora em colaboração com o Prof. Dra. Micheline Freire Donato, 2023. Pa- probabilidade de ser ativo. Pi- probabilidade de ser inativo. Resultado considerado: probabilidade Pa>0,7.

5.1.2 Ensaio toxicológico agudo (extrato integral rico em Δ_9 -THC)

A partir da década de 1970, centenas de estudos sobre a toxicidade dos fitocanabinoides em animais foram publicados (Phillips, Turk & Forney, 1971; Thompson *et al.*, 1973).

Em estudos anteriores, a DL50 em ratos foi descrita entre 800 e 1900 mg/kg dependendo do sexo e da cepa da planta. Já em cachorros a dose letal foi maior que 3000 mg/kg e em macacos maior que 9000 mg/kg (Thompson *et al.* 1973).

De acordo com o guia de avaliação de toxicidade dose única (OECD 423), as doses a serem administradas devem seguir a classificação GHS (categorias I a VI), utilizando concentrações padrão de 5, 50, 300 ou 2000 mg/kg. Essa seleção de doses baseia-se em estudos anteriores *in silico* e de administração única.

Logo, optou-se por iniciar o teste com a maior dose, pois, além do teste de toxicidade *in silico* ter demonstrado baixa toxicidade (grau III e IV), ficou demonstrado que a DL50 para camundongos machos é de 481,4 mg/kg (Phillips, Turk & Forney, 1971).

Dessa forma, os estudos toxicológicos no desenvolvimento de fármacos têm como objetivo analisar a segurança de potenciais candidatos a medicamentos, utilizando modelos animais para predizer possíveis riscos em humanos. A avaliação da segurança é essencial em todas as etapas, desde a seleção inicial dos compostos até a sua progressão para ensaios clínicos (Parasuraman, 2011).

Assim, o protocolo OECD 423, adotado para avaliação de toxicidade aguda, recomenda preferencialmente a utilização de fêmeas devido à sua maior sensibilidade farmacológica. Contudo, a inclusão de indivíduos machos mostrou-se válida nesse experimento. Entender o que torna as fêmeas mais susceptíveis, podendo comparar os efeitos entre fêmeas e machos justifica a adição desses indivíduos. Além disso, existe a evidência científica de que o Δ₉-THC pode exercer efeitos gonadotóxicos diretos em machos, conforme demonstrado tanto em estudos de exposição aguda quanto crônica (Yassa, Dawood, Shehata *et al.*, 2010).

Portanto, neste estudo, a avaliação toxicológica não clínica foi feita a partir de uma planta de uso milenar, já utilizada na clínica mas que ainda não apresenta estudos toxicológicos robustos. Diante disso, os achados foram correlacionados com o que há de mais novo em estudos não-clínicos *in vitro* e *in vivo* e em estudos clínicos.

5.1.2.1 MACHOS

5.1.2.1.1 Avaliação comportamental e motora

Dois testes foram utilizados para avaliar o comportamento motor dos animais. Um deles é o teste de Rota Rod, onde o animal é colocado em um cilindro rotativo e sua coordenação é avaliada durante 180 segundos, antes do começo do experimento e no fim, para detectar mudanças na coordenação motora, equilíbrio e resistência motora (Urbi, Lee, Hughes, 2022).

Por outro lado, no teste de campo aberto (open field), foram analisados durante 180 segundos os seguintes parâmetros: a movimentação espontânea (ambulação), quantificada pelo número de cruzamentos entre os quadrantes realizados com as quatro patas; a frequência de comportamentos de autolimpeza (grooming); episódios de levantamento corporal (rearing); e a contagem de bolos fecais (Carlini *et al.*, 1986).

De acordo com os resultados obtidos, a avaliação farmacológica comportamental revelou que a administração oral de extratos de *Cannabis*- tanto na formulação enriquecida em Δ_9 -THC quanto na rica em CBD - em modelos animais de ambos os性os, não induziu alterações significativas nos parâmetros avaliados pelos testes de Rota-rod e Campo Aberto (Open Field). Esses dados sugerem que a dose máxima testada (2000 mg/kg) não exerceu efeitos significativos sobre a atividade motora dos animais, e a via de administração pode constituir um fator determinante na manifestação dos efeitos farmacológicos desses fitocanabinoides.

No entanto, evidências experimentais indicam que a inalação de fumaça com concentração de 5,7% de Δ_9 -THC resultou em aumento significativo da atividade locomotora em roedores submetidos ao teste de campo aberto. Adicionalmente, observou-se que os animais expostos permaneceram por períodos mais prolongados na zona central do campo, comportamento esse que sugere redução nos padrões de ansiedade (Bruijnzeel, Qi, Guzhva, 2016).

Já em estudos clínicos foram observadas alterações motoras em usuários de *Cannabis*, com alguns estudos mostrando déficits (Prashad, Filbey, 2017) e outros indicando desempenhos normais (Ward, Springer, Schantell *et al.*, 2023), evidenciando a necessidade de mais estudos, principalmente com diferentes vias de administração.

5.1.2.1.2 Triagem Farmacológica

Após a administração do extrato diluído em óleo de milho, foram observadas alterações depressoras do SNC, demonstrados no quadro a seguir, nos intervalos de 30, 60 e 120 minutos. Nos demais tempos, 180 e 240 minutos, não foram observados nenhuma alteração, sugerindo que os efeitos depressores permanecem somente nas duas primeiras horas após a ingestão.

Quadro 1- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração em camundongos Swiss machos tratados com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg (número de animais: n=3).

	Camundongo 1			Camundongo 2			Camundongo 3		
Tempo	30'	60'	120'	30'	60'	120'	30'	60'	120'
Ambulação diminuída		X							
Analgesia/antinocicepção	X								
Catatonia		X	X		X	X	X	X	X
Perda do reflexo auricular	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Perda do reflexo corneal	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Resposta ao toque diminuída	X			X		X		X	
Perda de força para garrar				X		X			X
Sedação								X	
Diminuição do movimento de vibriças	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Tremores							X		

Investigando os efeitos do extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC no SNC e SNA, por meio da análise de parâmetros comportamentais, foi possível correlacionar os achados com o que cita a prática clínica (Landschaft, Mechoulam, 2017).

Em suma, os efeitos adversos/colaterais dos fitocanabinoides são divididos em duas categorias: Efeitos fisiológicos: tontura, aumento ou diminuição da frequência cardíaca, hipotensão, aumento do apetite, dor de cabeça, cólica abdominal, fadiga, diminuição da coordenação motora, ansiedade e boca seca. Efeitos cognitivos: perda da memória recente e diminuição da percepção do tempo e do espaço (Landschaft, Mechoulam, 2017).

Diante desse fato, foi possível perceber que os animais apresentaram diminuição da frequência cardíaca e diminuição da coordenação motora evidenciados na perda dos reflexos auricular e corneal e na perda de força para agarrar, bem como a diminuição da percepção do tempo e do espaço, como a diminuição do movimento de vibriças.

Por fim, alguns outros efeitos identificados na prática clínica não foram indicativos nesse experimento. Nesse caso, a triagem precisa considerar a via de administração mais comum, que é a via inalatória e não a via oral, além de dose e frequências realistas, para garantir que os efeitos comportamentais sejam comparáveis aos humanos (McLaughlin, 2017).

5.1.2.1.3 Consumo de Água, Ração e Evolução Ponderal

Tabela 4- Avaliação do consumo de água e ração de camundongos Swiss machos tratados com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg (n=3).

CONSUMO	Δ_9 -THC	VEÍCULO	CONTROLE
Consumo água (mL)	32,86±3,4	32,00± 2,3	29,50±2,0
Consumo ração (g)	19,43±1,8	19,07± 0,84	19,86±0,6

Dados expressos como média ± erro padrão da média.

Tabela 5- Avaliação da evolução ponderal de camundongos Swiss machos tratados com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg (n=3).

EVOLUÇÃO PONDERAL	Δ_9 -THC	VEÍCULO	CONTROLE
Tempo 0	38,67± 2,66	34,00± 2,08	36,33± 0,88
Tempo 1	38,00± 2,08	34,00± 1,73	39,00± 1,52
Tempo 2	38,67± 2,66	36,33± 2,96	41,33± 1,85

Dados expressos como média ± erro padrão da média.

5.1.2.1.4 Parâmetros Hematológicos

Tabela 6- Avaliação hematológica do sangue camundongos Swiss machos tratados com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg (n=3).

HEMOGRAMA	Δ_9 -THC	VEÍCULO	CONTROLE
HEMÁCIAS (milh/mm ³)	7773±236,00	8193± 257,30	8293± 389,70
HEMATÓCRITO (g/dl)	43,67±1,20	44,67± 1,45	44,67±2,03
HEMOGLOBINA (%)	13,77±0,44	14,10± 0,47	14,27±0,54
V.C.M (f L)	56,93±0,75	55,47± 0,53	54,63±0,24
H.C.M (%)	17,70±0,40	17,03± 0,06	17,20±0,26

C.H.C.M (pg)	31,27±0,33	31,00± 0,15	31,37±0,34
LEUC. T. (mm³)	4,86±0,67	8,43± 2,15	6,00±0,88
SEGMENTADOS	15,00±8,14	17,00± 7,81	13,33±0,88
EOSINÓFILOS	0,33±0,33	0,33±0,33	1,66±1,20
BASÓFILOS	0	0	0
LINFÓCITOS	51,33±25,83	82,00± 7,81	85,00±2,08
MONÓCITOS	0	0	0
PLAQUETAS (mm³)	1012±30,51	1053± 48,45	1070±45,73

Volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina celular média (HCM), concentração média de hemoglobina corpuscular celular (CHCM). Dados expressos como média ± erro padrão da média.

5.1.2.1.5 Parâmetros Bioquímicos

Tabela 7- Avaliação bioquímica do sangue camundongos Swiss machos tratados com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg (n=3).

TESTES	Δ_9 -THC	VEÍCULO	CONTROLE
BIOQUÍMICOS			
ALBUMINA g/dL	2,46± 0,11	2,55± 0,08	2,61± 0,15
ALT U/L	27,33± 2,72	46,33± 17,38	33,67±5,17
AST U/L	79,67± 13,45	90,33± 13,17	128,0± 17,04
COLESTEROL mg/dL	125,0± 7,00	133,3± 9,26	125,0± 8,96
FOSFATASE AL. U/L	172,3± 2,96	240,0± 32,13	200,7± 14,11
GLICOSE mg/dL	486,0± 2,30	393,7± 12,57	473,7± 32,31
HDL mg/dL	78,67± 19,01	103,3± 2,40	98,00± 5,29
LDH mg/dL	1090± 469,40	579,0± 101,0	803,3± 23,38
LACTATO mg/dL	44,50± 5,50	76,33± 25,90	54,33± 3,48
TRIGLICER. mg/dL	104,0± 12,90	131,0± 42,00	119,3± 23,97
URÉIA mg/dL	58,00± 18,00	107,0± 7,55	104,0± 3,60

Alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL), lipoproteína de alta densidade (HDL), lactato desidrogenase (LDH). Dados expressos como média ± erro padrão da média.

5.1.2.1.6 Parâmetros Anatomopatológicos

Tabela 8- Avaliação bioquímica do sangue camundongos Swiss machos tratados com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg (n=3).

PESO DOS ÓRGÃOS (g)	Δ_9 -THC	VEÍCULO	CONTROLE
Coração	0,17± 0,02	0,17± 0,02	0,16± 0,01
Pulmão	0,28± 0,03	0,24± 0,02	0,24± 0,02
Rim Direito	0,26± 0,01	0,24± 0,03	0,25± 0,02
Rim Esquerdo	0,26± 0,02	0,26± 0,01	0,25± 0,03
Baço	0,13± 0,03	0,13± 0,01	0,11± 0,01
Fígado	2,21± 0,15	2,25± 0,20	2,08± 0,17
Estômago	0,77± 0,05	0,71± 0,06	0,65± 0,07
Intestino	2,09± 0,26	1,98± 0,20	1,86± 0,15
Sistema Reprodutivo	2,40± 0,25	1,86± 0,09*	2,68± 0,31

p*<0,05 em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

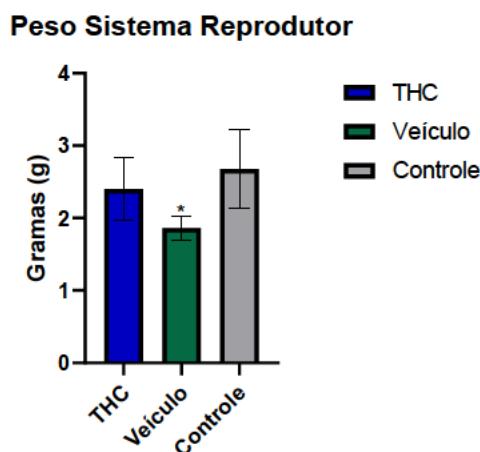


Gráfico 1- Peso do sistema reprodutor em gramas de camundongos Swiss machos (n=3). Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05.

Todos os achados anatomo-patológicos, como peso, altura e largura dos órgãos, foram correlacionados com os achados histológicos. Todos os órgãos avaliados apresentaram preservação morfológica, sem indicativo de lesão.

Dessa forma, a discussão a seguir fundamentada nos achados anatomo-patológicos, embora pertinente para contextualizar os resultados dentro da

literatura científica, assume caráter complementar, uma vez que a ausência de alterações histológicas demonstra a preservação integral das estruturas avaliadas.

Outros estudos também não identificaram alterações macroscópicas ou histológicas em casos de exposição aguda à *Cannabis* (Costa, Gasparotto, Garcia *et al.*, 2025), o que corrobora com os resultados obtidos no presente trabalho.

Além disso, é possível que uma única administração não seja suficiente para causar alterações morfológicas, sendo necessárias doses repetidas para observar tais efeitos (Tallon, Child, 2023).

Sendo assim, a análise comparativa dos efeitos do extrato de *Cannabis* tanto rico em Δ_9 -THC como rico em CBD, frente ao controle (solução salina) e ao veículo (óleo de milho) demonstrou alterações significativas nos parâmetros morfométricos de órgãos reprodutivos em camundongos machos. O grupo tratado com óleo de milho apresentou redução significativa no peso do sistema reprodutor em comparação tanto ao grupo administrado com Δ_9 -THC quanto ao grupo tratado com CBD (gráfico 1 e 6). Porém, não foi possível fazer a avaliação histológica do órgão devido a artefatos de processamento.

Dessa maneira, em estudos *in vivo* com compostos lipofílicos, é comum o uso de um veículo diluente para permitir a administração oral e avaliação dos efeitos da substância testada (Guerra, Tamarindo, de Campos *et al.* 2019). No presente trabalho, foi utilizado o mesmo veículo adotado pela Associação Brasileira de Apoio à Cannabis Esperança (ABRACE), associação responsável pelo fornecimento desse produto a mais de 35 mil pacientes.

Em consonância com os dados obtidos, estudos indicam que mesmas quantidades reduzidas de óleo de milho podem influenciar os esteroides sexuais e a fisiologia reprodutiva em gerbilis da Mongólia (Guerra, Tamarindo, de Campos *et al.*, 2019). Adicionalmente, pesquisadores observaram que o óleo de milho pode induzir modificações morfofisiológicas na próstata desses roedores, com evidências de redução no peso do sistema reprodutor (gráfico 1 e 6).

Tais resultados sugerem que a utilização do óleo de milho como veículo requer cuidadosa consideração, uma vez que pesquisas comprovam seus efeitos pró-inflamatórios, chamando a atenção para os possíveis impactos na função reprodutiva e seu potencial para acelerar processos inflamatórios (Gokulan, Kumar, Lahiani *et al.*, 2021).

Em contrapartida, a utilização de outro óleo, como o triglicerídio de cadeia média (TCM), demonstra o aumento do teor antioxidant de fitocanabinoides oferecendo potencial para aplicações nutracêuticas e cosméticas (Meepun, Sommart, Bualuang, 2025).

Tabela 9- Altura dos órgãos de camundongos Swiss machos tratados com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg (n=3).

ALTURA DOS ÓRGÃOS (cm)	Δ_9 -THC	VEÍCULO	CONTROLE
Coração	0,90± 0,00	0,93± 0,03	0,83± 0,03
Pulmão	1,70± 0,06*	1,26± 0,03	1,23± 0,03
Rim Direito	1,10± 0,06	1,03± 0,07	1,06± 0,03
Rim Esquerdo	1,20± 0,01	1,17± 0,03	1,13± 0,03
Baço	1,83± 0,09*	1,83± 0,09*	1,60± 0,00
Fígado	2,23± 0,03	2,43± 0,03	2,37± 0,07
Estômago	1,63± 0,03*	1,47± 0,03	1,40± 0,06

p*<0,05 em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

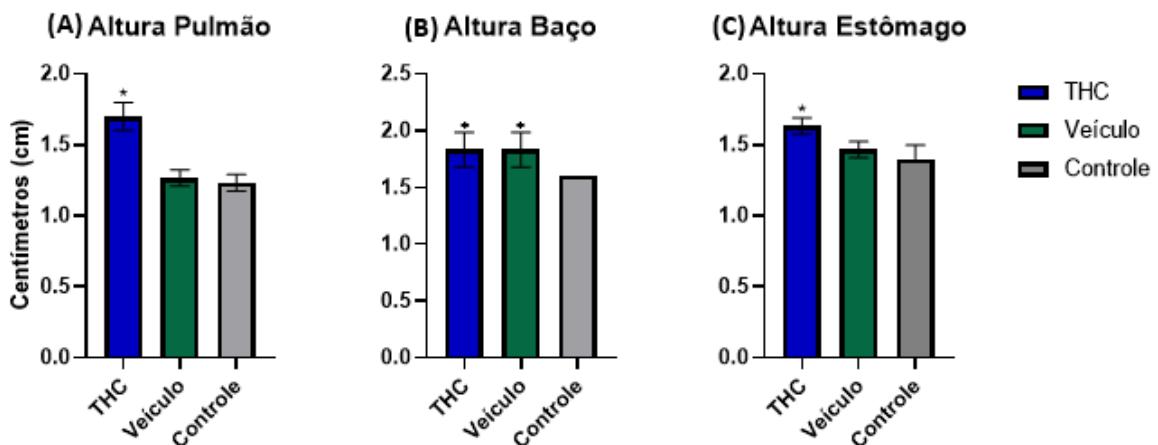


Gráfico 2- Altura em centímetros do pulmão (A), baço (B) e estômago (C) de camundongos Swiss machos (n=3). Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05.

Sendo assim, o grupo tratado (Δ_9 -THC 2000mg/kg) apresentou maior altura pulmonar (gráfico 2A) e maior altura estomacal (gráfico 2C) quando comparado aos outros grupos. A atividade do Δ_9 -THC como potente agente anti-inflamatório, comprovada pela supressão significativa de citocinas pró-inflamatórias (IFN- γ e TNF- α) em modelos de síndrome do desconforto respiratório agudo (Mohammed, Alghetaa, Sultan *et al.*, 2020).

Em adição, roedores expostos a um modelo de exposição nasal controlada à fumaça de *Cannabis*, tiveram uma modulação na resposta imune pulmonar, diminuindo a porcentagem de macrófagos alveolares pulmonares, na proporção THC:CBD (Haidar, Traboulsi, Eidelman, 2023).

É fato comprovado que a fumaça da *Cannabis* modula as populações de células imunes e mediadores em camundongos (Fantauzzi, Cass, McGrath *et al.*, 2021). Além de pesquisas em modelos animais, estudos clínicos em humanos, comprovam a ação anti-inflamatória da *Cannabis*. Diante disso, uma revisão sistemática de 2022 (Joshi, Joshi, Bartter) analisou diversos estudos e concluiu que o uso de *Cannabis* vaporizada não causa doença pulmonar obstrutiva crônica e provavelmente não está associado ao desenvolvimento de câncer de pulmão.

Em acréscimo, em relação ao baço, foi possível constatar que tanto o grupo tratado com o extrato rico em Δ_9 -THC, quanto o grupo veículo, apresentaram maior altura desse órgão comparado ao grupo controle (gráfico 2B e 7B).

Em suma, o baço desempenha múltiplas funções essenciais no sistema imunológico, estando envolvido em vários processos inflamatórios (Lewis, Williams, Eisenbarth, 2019). Sabendo da atividade anti-inflamatória do Δ_9 -THC, esse aumento na altura do órgão pode estar associado ao papel direto do fitocanabinoide na modulação da resposta imune splênica (Kaminski, Abood, Kessler *et al.*, 1992).

Porém, estudos mais atuais demonstram o não desenvolvimento de esplenomegalia, e a consequente redução da proliferação de células T auxiliar e citocinas inflamatórias (IL-2 e IFN- γ) (Pandey, Hegde, Nagarkatt *et al.*, 2011).

Igualmente significativo, um estudo recente utilizou pequenas doses de Δ_9 -THC para o tratamento de colite e constatou redução de peso esplênico e inflamação, com consequente ação anti-inflamatória sistêmica e melhora da colite (Thapa, Patil, Warne *et al.*, 2025), demonstrando que o órgão pode sofrer diminuição ao invés de aumento como visto na avaliação macroscópica.

Não menos relevante, no que concerne ao óleo de milho, sabe-se que ele é rico em ômega-6 ($\omega 6$) e $\omega 3$ e tende a manter um perfil mais pró-inflamatório no baço, com ativação imunológica sustentada (Soni, Ross, Scheers *et al.*, 2017), podendo correlacionar a sua maior altura quando comparado ao controle (gráfico 2B).

Em paralelo, o gráfico 2C apresenta maior altura estomacal do grupo tratado. Estudos confirmam que o Δ_9 -THC protege contra danos inflamatórios gástricos induzidos por diclofenaco (Kinsey, Cole, 2013) e também pode estar associado a regeneração e regulação dos hormônios do apetite em tecidos gástricos hiperinsulinêmicos (Colak, Coskun Yazici, Bolkent, 2023). Entretanto, não foram encontrados estudos que correlacionam uma maior altura estomacal do grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC e sua atuação no sistema digestório (gráfico 2C) além dos estudos referidos acima.

Tabela 10- Largura dos órgãos de camundongos Swiss machos tratados com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg (n=3).

LARGURA DOS ÓRGÃOS (cm)	Δ_9 -THC	VEÍCULO	CONTROLE
Coração	0,47 \pm 0,03	0,53 \pm 0,03	0,47 \pm 0,03
Pulmão	1,13 \pm 0,03	0,90 \pm 0,00	0,93 \pm 0,03
Rim Direito	0,80 \pm 0,06	0,57 \pm 0,03	0,57 \pm 0,03
Rim Esquerdo	0,77 \pm 0,07	0,60 \pm 0,00	0,57 \pm 0,03
Baço	0,57 \pm 0,03	0,47 \pm 0,03	0,40 \pm 0,00
Fígado	1,87 \pm 0,03	2,10 \pm 0,00	2,00 \pm 0,06
Estômago	1,13 \pm 0,07	1,00 \pm 0,00	0,97 \pm 0,03

Dados expressos como média \pm erro padrão da média.

5.1.2.1.7 Parâmetros Histológicos

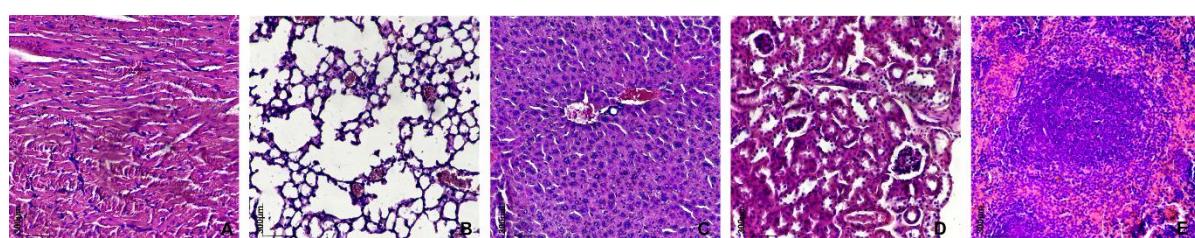


Figura 12- Cortes histológicos órgãos de camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC. Cortes de coração (A), pulmão (B), fígado (C), rim (D) e baço (E) na objetiva de 10x, corados com HE.

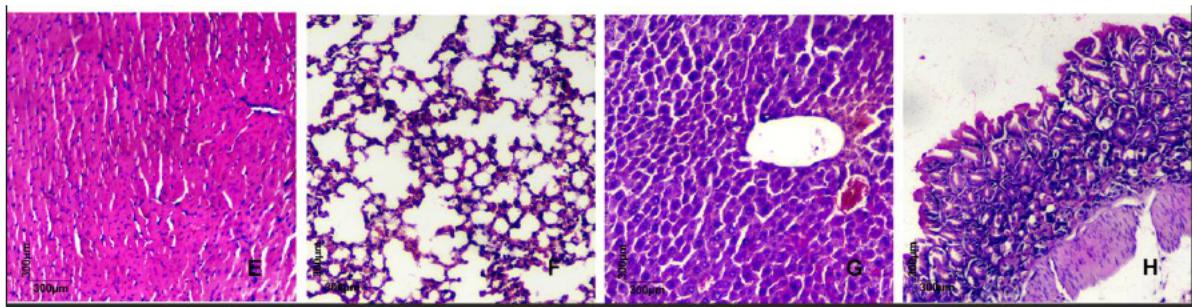


Figura 13- Cortes histológicos órgãos de camundongos Swiss machos (n=3) tratados com óleo de milho. Cortes histológicos de coração (E), pulmão (F), fígado (G) e cólon (H) na objetiva de 10x, corados com HE.

Dessa maneira, observa-se que nas condições experimentais avaliadas, os órgãos de camundongos Swiss machos tratados com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg (figura 12) e os órgãos dos animais que receberam o veículo (óleo de milho) (figura 13), apresentaram preservação morfológica, com ausência de alterações inflamatórias, vasculares ou degenerativas.

Devido a artefatos de processamento, alguns órgãos do grupo tratado bem como alguns órgãos do grupo veículo não apresentaram a possibilidade de serem avaliados.

5.1.2.2 FÊMEAS

5.1.2.2.1 Triagem Farmacológica

Quadro 2- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração em camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg (n=3).

Resposta ao toque diminuida			X			X	X	X	X	X	X	X
Sedação	X	X				X	X	X	X	X	X	X
Perda de força para garrar		X	X			X	X	X	X	X	X	X
Dimunuição do movimento de vibriças	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X
Tremores							X					

Quadro 2 (cont.)- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração em camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 2000 mg/Kg.

	Camundongo 1	Camundongo 2	Camundongo 3*
Tempo	24 horas pós-administração		
Abdução das patas do trem posterior	X	X	X
Ambulação diminuida	X	X	X
Analgesia/antinocicepção	X	X	X
Anestesia	X	X	X
Ataxia	X	X	X
Catatonía	X	X	X
Diarréia		X	X
Dimunuição do movimento de vibriças	X	X	X
Hipnose	X	X	X
Perda do reflexo auricular	X	X	X
Perda de força para garrar	X	X	X
Perda do reflexo corneal	X	X	X*
Ptose palpebral	X	X	X*
Resposta ao toque diminuida	X	X	X
Reflexo do endireitamento	X	X	X
Respiração diminuida	X	X	X
Sedação	X	X	X

*Camundongo 3- Perda do reflexo corneal juntamente com ptose palpebral = perda da visão.

Em conformidade com o protocolo OECD 423 para avaliação de toxicidade aguda, que preconiza o uso preferencial de fêmeas devido à sua maior sensibilidade farmacológica, observou-se a necessidade de eutanásia humanitária imediata de dois dos três indivíduos tratados com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC (2000 mg/kg), conforme diretrizes éticas.

Dessa forma, o animal 1 apresentou todos os sintomas depressores do SNC, mas voltou ao seu estado normal 48h pós administração. Já o camundongo 3 apresentou perda total do reflexo de endireitamento e da visão 24 horas pós-

administração, com sinais evidentes de sofrimento justificou-se a eutanásia humanitária. Adicionalmente, o camundongo 2 veio a óbito 30 horas após a administração.

Diante deste desfecho, como preconiza a diretriz, o ensaio foi repetido com a dose máxima de 2000 mg/kg, ocasião em que novamente se fez necessária a eutanásia humanitária de dois animais.

Quadro 3- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração da repetição da dose de 2000 mg/Kg em camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de *Cannabis* rico em Δ₉-THC.

Tempo	Camundongo 1				Camundongo 2				Camundongo 3					
	30'	60'	120'	180'	30'	60'	120'	180'	24h	30'	60'	120'	180'	24h
Abdução das patas do trem posterior	X	X	X	X		X	X	X			X			
Anestesia					X									
Catatonia		X	X	X	X	X	X	X			X			
Diarréia									X					
Perda do reflexo auricular					X		X	X	X					X
Perda do reflexo corneal						X	X	X						X
Resposta ao toque diminuída					X									
Reflexo do endireitamento									X					X
Perda de força para garrar	X	X	X		X	X	X				X			
Irritabilidade										X				

O animal 3 apresentou recuperação completa dos reflexos duas horas após a administração. Entretanto, os animais 1 e 2, nas avaliações realizadas 24 horas pós-administração, apresentaram perda dos reflexos auricular e corneal, perda total do reflexo de endireitamento, e quadro de diarréia acentuada.

Diante da manifestação desses sinais clínicos indicativos de sofrimento agudo e comprometimento neurológico, procedeu-se ao fim humanitário, em conformidade com os princípios éticos estabelecidos para experimentação animal.

Com a perda de 2 dos 3 animais, a dose foi reduzida para 300 mg/Kg, como preconiza a OECD 423.

Quadro 4- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração em camundongos Swiss fêmeas tratadas com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 300 mg/Kg.

	Camundongo 1				Camundongo 2				Camundongo 3			
	30'	60'	120'	24h	30'	60'	120'	24h	30'	60'	120'	24h
Tempo				X								
Agressividade												
Autolimpeza					X							
Tremores			X				X					X
Ambulação diminuída	X				X	X			X	X		
Analgesia/antinocicepção		X									X	X
Anestesia							X					
Catatonia			X			X	X		X	X	X	
Perda do reflexo auricular		X			X		X	X	X	X	X	
Perda do reflexo corneal		X			X		X	X	X			X
Ptose palpebral				X		X			X			
Reflexo do endireitamento							X	X				X
Resposta ao toque diminuída										X	X	
Perda de força para garrar	X	X			X	X	X		X	X	X	
Piloereção		X			X		X					X
Respiração diminuída									X			

Assim, nas avaliações realizadas 24 horas após a administração, constatou-se no animal 2 a perda dos reflexos auricular, corneal e do endireitamento. Diante da manifestação desses marcadores neurológicos de sofrimento, procedeu-se à eutanásia humanitária. Os demais animais apresentaram recuperação integral dos parâmetros avaliados no mesmo período observacional.

Diante desse fato, fica evidente a susceptibilidade das fêmeas em relação aos machos no que tange a dose máxima definida no experimento.

Em estudos feitos a partir da década de 1980, foi constatado que a exposição ao Δ_9 -THC influencia os níveis hormonais plasmáticos de diferentes formas entre machos e fêmeas, sendo as fêmeas, mais sensíveis (Dalterio, Bartke, Mayfield, 1981).

Assim, com o passar dos anos, estudos comparativos entre machos e fêmeas foram feitos com o intuito de entender a divergência dos efeitos frente à exposição aguda e crônica do fitocanabinoide (Wiley, Burston, 2014).

Em acréscimo, estudos em roedores demonstram que fêmeas apresentam maior sensibilidade aos efeitos do Δ_9 -THC em comparação aos machos, especialmente em testes de antinocicepção, atividade motora e reforço comportamental (Craft, Marusich, Wiley, 2013).

De fato, essa diferença pode estar relacionada à ação moduladora dos hormônios gonadais, particularmente o estradiol, que parece influenciar os efeitos dimórficos dos canabinoides em adultos. Canabinoides no caso, porque a pesquisa foi feita com administração intraperitoneal de um composto sintético, diferente do objeto estudado. O tipo de administração e a composição da substância atuam diretamente em seus efeitos (Reisdorph, Doenges, Leven *et al.*, 2024).

Por outro lado, existem poucos estudos sobre a administração oral aguda. Uma pesquisa com administração vaporizada mostrou que os machos apresentaram melhor desempenho em uma tarefa de atenção dividida e maiores concentrações plasmáticas de 11-COOH-THC em comparação às fêmeas (Arkell, Kevin, Vinckenbosch *et al.*, 2022) que convertem mais Δ_9 -THC em 11-OH-THC (Cooper, Craft, 2018).

Diante disso, observa-se que o Δ_9 -THC é metabolizado em (-)-11-hidroxi- Δ -9-tetraidrocanabinol ((-)-11-OH- Δ -9-THC), um metabólito ativo com alta capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. Posteriormente, o 11-OH-THC pode ser oxidado em (-)-11-nor-9-carboxi- Δ -9-tetraidrocanabinol (THC-COOH) (inativo) para facilitar a sua excreção (Hassenberg, Clausen, Hoffmann *et al.*, 2020).

Assim, esses estudos indicam que o 11-OH-THC apresenta maior afinidade de ligação ao receptor CB1 comparado ao Δ_9 -THC, podendo manifestar efeitos psicoativos de igual ou maior magnitude. Essa propriedade farmacológica explica sua contribuição para as variações observadas na potência e persistência dos efeitos, particularmente em administrações orais, que produzem concentrações significativamente mais elevadas deste metabólito ativo em relação à via inalatória (Zagzoog, Halter, Jones *et al.*, 2024).

Dessa maneira, as diferenças observadas entre os sexos podem ser explicadas pelas maiores concentrações cerebrais de 11-OH-THC nas fêmeas, que se correlacionam com respostas comportamentais mais pronunciadas (hipotermia e catalepsia), conforme demonstrado nos testes comportamentais. Esses resultados evidenciam uma distinta sensibilidade metabólica e neurocomportamental dependente do sexo (Wiley, Burston, 2014).

Dessa forma, sugere-se que as fêmeas podem ser mais vulneráveis do que os machos ao desenvolvimento de dependência após exposição crônica aos canabinoides, sendo necessárias outras investigações (Wakley, Wiley, Craft, 2014).

Ademais, evidências demonstram que machos e fêmeas apresentam respostas diferentes à essa exposição, onde fêmeas se mostram mais propensas a apresentar alterações hormonais e na morfologia cerebral (Taylor, Nweke, Vincent *et al.*, 2023).

Conclui-se então que a escassez de evidências sobre a susceptibilidade das fêmeas frente à exposição aguda evidencia a necessidade de novos estudos como esse, visando subsidiar a prática clínica. Tais achados destacam a importância da inclusão sistemática de variáveis sexuais nos protocolos pré-clínicos envolvendo fitocanabinoides, com implicações diretas para a pesquisa clínica e no desenvolvimento terapêutico.

5.1.2.2.2 Consumo de Água, Ração e Evolução Ponderal

Tabela 11- Avaliação do consumo de água e ração de camundongos Swiss fêmeas (n=2) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 300mg/kg.

CONSUMO	Δ_9 -THC 300	VEÍCULO	CONTROLE
Consumo água (mL)	28,43 \pm 2,57	25,21 \pm 1,83	21,71 \pm 1,45
Consumo ração (g)	11,86 \pm 0,82	13,79 \pm 0,65	13,50 \pm 0,70

N= 2 animais. Dados expressos como média \pm erro padrão da média.

Tabela 12- Avaliação da evolução ponderal de camundongos Swiss fêmeas (n=2) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 300mg/kg.

EVOLUÇÃO PONDERAL	Δ_9 -THC
Tempo 0	26,33 \pm 2,40
Tempo 1	20,67 \pm 10,40
Tempo 2	22,33 \pm 11,20

Dados expressos como média \pm erro padrão da média.

5.1.2.2.3 Parâmetros Hematológicos

Tabela 13- Avaliação hematológica do sangue de camundongos Swiss fêmeas (n=2) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 300mg/kg.

HEMOGRAMA	Δ_9 -THC 300	VEÍCULO	CONTROLE
HEMÁCIAS (milh/mm³)	6970 \pm 30,00	7350 \pm 70,00	7730 \pm 28,00
HEMATÓCRITO (g/dL)	37,95 \pm 0,15	40,50 \pm 0,50	42,00 \pm 1,00
HEMOGLOBINA (%)	12,40 \pm 0,40	13,35 \pm 0,50	13,55 \pm 2,50
V.C.M (fL)	54,45 \pm 0,45	55,50 \pm 0,10	54,80 \pm 1,00
H.C.M (%)	17,70 \pm 0,70	18,15 \pm 0,25	17,50 \pm 0,30
C.H.C.M (pg)	32,60 \pm 0,90	32,70 \pm 0,40	32,00 \pm 0,00
LEUC. T. (mm³)	4,30 \pm 0,30	7,30 \pm 1,30	5,35 \pm 4,50
SEGMENTADOS	38,00 \pm 2,00	20,00 \pm 10,00	19,50 \pm 7,50
EOSINÓFILOS	0	0	1,00 \pm 0,00
BASÓFILOS	0	0	0
LINFÓCITOS	62,00 \pm 2,00	80,00 \pm 10,00	79,50 \pm 7,50
MONÓCITOS	0	0	0
PLAQUETAS (mm³)	719,50 \pm 45,00	859 \pm 11,10	1053 \pm 0,00

Volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina celular média (HCM), concentração média de hemoglobina corpuscular celular (CHCM). Dados expressos como média \pm erro padrão da média.

5.1.2.2.4 Parâmetros Bioquímicos

Tabela 14- Avaliação bioquímica do sangue de camundongos Swiss fêmeas (n=2) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 300mg/kg.

TESTES	Δ_9 -THC 300	VEÍCULO	CONTROLE
BIOQUÍMICOS			
ALBUMINA g/dL	157,00 \pm 17,00	160,00 \pm 30,00	148,00 \pm 28,50
ALT U/L	63,00 \pm 5,00	84,50 \pm 7,50	92,50 \pm 0,50
AST U/L	67,50 \pm 7,50	59,50 \pm 6,50	58,00 \pm 6,00
COLESTEROL			
mg/dL	96,50 \pm 11,50	90,00 \pm 8,00	112,00 \pm 12,00
GLICOSE mg/dL	221,00 \pm 39,00	355,50 \pm 20,50	339,00 \pm 53,00
HDL mg/dL	73,00 \pm 8,00	52,50 \pm 20,50	93,00 \pm 3,00
LDH mg/dL	1092,00 \pm 53,50	700,00 \pm 80,00	1034,00 \pm 42,00
LACTATO mg/dL	122,50 \pm 7,50	88,00 \pm 7,00	103,00 \pm 16,00

TRIGLICERÍDIOS			
mg/dL	184,00± 9,00	90,00± 4,00	113,00± 30,00
URÉIA mg/dL	44,50± 4,50	43,50± 1,50	40,50± 18,50

Alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL), lipoproteína de alta densidade (HDL), lactato desidrogenase (LDH). Dados expressos como média ± erro padrão da média.

5.1.2.2.5 Parâmetros Anatomopatológicos

Tabela 15- Peso dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas (n=2) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 300 mg/Kg.

PESO DOS ÓRGÃOS (g)	Δ_9-THC	VEÍCULO	CONTROLE
Coração	0,18± 0,01	0,15± 0,02	0,13± 0,00
Pulmão	0,53± 0,05	0,24± 0,02	0,23± 0,03
Rim Direito	0,20± 0,00	0,21± 0,00	0,19± 0,03
Rim Esquerdo	0,22± 0,00	0,20± 0,01	0,19± 0,00
Baço	0,30± 0,09*	0,14± 0,01	0,12± 0,02
Fígado	2,58± 0,05*	1,98± 0,14	1,65± 0,02
Estômago	0,80± 0,05	0,74± 0,06	0,58± 0,01
Intestino	6,31± 0,83*	2,11± 0,08	1,61± 0,19
Sistema			
Reprodutivo	0,80± 0,19	1,06± 0,18	1,05± 0,08

p*<0,05 em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

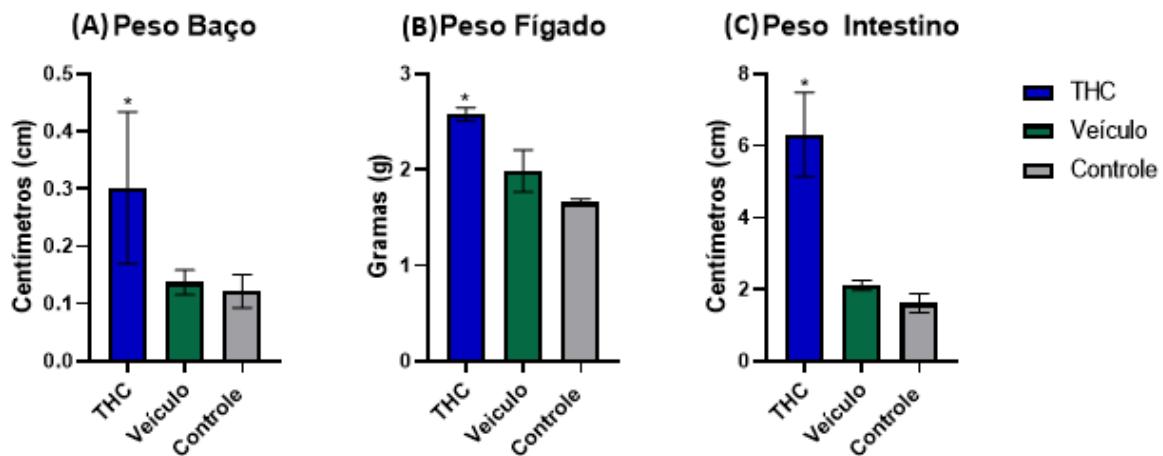


Gráfico 3- Peso em gramas do baço (A), fígado (B) e intestino (C) de camundongos Swiss fêmeas (n=2). Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 300 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina).

Diante dos resultados, os dados sugerem um aumento do peso hepático (Gráfico 3B) está diretamente associado ao metabolismo do Δ_9 -THC em 11-OH-THC, onde fêmeas apresentam concentrações plasmáticas e cerebrais desse metabólito 7 vezes superiores à dos machos. Adicionalmente, a conversão mediada por microssomos hepáticos é duas vezes mais rápida em fêmeas (Torrens, Roy, Lin *et al.*, 2022).

Sendo assim, esse metabolismo acelerado e diferencial favorece maior exposição ao metabólito ativo e pode influenciar processos como inflamação ou crescimento hepático (Torrens, Roy, Lin *et al.*, 2022).

Por outro lado, uma revisão indica que o estrogênio regula positivamente a expressão de CB1 e FAAH no fígado, modificando o metabolismo de canabinoides e potencialmente contribuindo para o aumento do peso hepático (Forner-Piquer, Giommi, Sella *et al.*, 2024).

Diante do exposto, a maior taxa de conversão, especialmente em fêmeas, gera níveis mais elevados de 11-OH-THC. Isso pode estimular respostas inflamatórias ou promover crescimento celular em tecidos sensíveis como o fígado e baço (Wagner, 2016), o que provavelmente explica o aumento de peso nos dois órgãos (gráfico 3A e 3B).

Posteriormente, em relação ao intestino, não há estudos científicos recentes que demonstrem que o metabolismo do Δ_9 -THC em fêmeas esteja diretamente associado a um aumento de peso.

Ademais, um estudo recente demonstrou que o Δ_9 -THC exerceu efeitos anti-inflamatórios locais, promoveu a regeneração epitelial e modulou a expressão de marcadores como IL-6 e receptores CB2 em um modelo de dieta rica em frutose, não sendo observado aumento significativo no peso intestinal (Isildar, Beydogan, Koyuturk, *et al.*, 2024).

Em acréscimo, outro estudo identificou mudanças no metabolismo lipídico intestinal e fecal, especialmente em vias como glicerofosfolipídios e biossíntese de ácidos graxos, podendo estar relacionado ao metabolismo local do intestino, ainda que não trate diretamente do volume ou peso do órgão (Oza, Becker, Gummadi, *et al.*, 2019).

Por fim, revisões destacam que o SEC está fortemente envolvido em diversas funções intestinais, incluindo motilidade, permeabilidade e absorção de nutrientes (DiPatrizio, 2016; 2021), sendo necessário mais estudos que elucidem a atuação direta do Δ_9 -THC na modulação e consequente aumento de peso do intestino.

Tabela 16- Altura dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas (n=2) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 300 mg/Kg.

ALTURA DOS ÓRGÃOS (cm)	Δ_9 -THC	VEÍCULO	CONTROLE
Coração	0,90± 0,00	0,85± 0,05	0,90± 0,01
Pulmão	1,35± 0,50	1,25± 0,05	1,30± 0,00
Rim Direito	1,05± 0,50	1,00± 0,00	1,00± 0,01
Rim Esquerdo	1,00± 0,10	1,00± 0,00	1,00± 0,00
Baço	1,85± 0,15	1,95± 0,50	1,90± 0,00
Fígado	2,55± 0,50	2,35± 0,50	2,50± 0,00
Estômago	1,45± 0,50	1,40± 0,00	1,45± 0,15

Dados expressos como média ± erro padrão da média.

Tabela 17- Largura dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas (n=2) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC na dose de 300 mg/Kg.

LARGURA DOS ÓRGÃOS (cm)	Δ_9 -THC	VEÍCULO	CONTROLE
Coração	0,45± 0,50	0,50± 0,00	0,50± 0,00
Pulmão	1,00± 0,00	0,95± 0,50	1,10± 0,00
Rim Direito	0,50± 0,00	0,50± 0,00	0,50± 0,00
Rim Esquerdo	0,45± 0,50	0,50± 0,00	0,50± 0,00
Baço	0,70± 0,00	0,50± 0,00	0,50± 0,00
Fígado	2,05± 0,50	2,00± 0,00	2,10± 0,00
Estômago	1,00± 0,00	1,10± 0,00	1,15± 0,15

Dados expressos como média ± erro padrão da média.

5.1.2.2.6 Parâmetros Histológicos

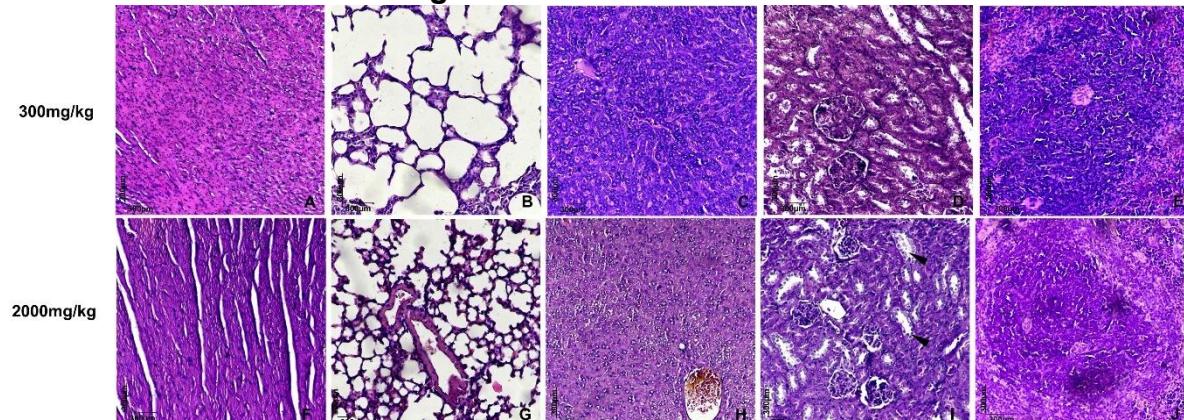


Figura 14- Cortes histológicos de órgãos de camundongos Swiss fêmeas (n=2) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em Δ_9 -THC nas concentrações 300 mg/Kg e 2000 mg/Kg. Cortes histológicos de coração (A e F), pulmão (B e G), fígado (C e H), rim (D e I) e baço (E e J) na objetiva de 10x, corados com HE.

Observa-se que nas condições experimentais avaliadas, o grupo tratado com Δ_9 -THC na dose de 300mg/kg apresentou preservação morfológica de todos os órgãos avaliados, com ausência de alterações inflamatórias, vasculares ou degenerativas.

De igual forma, na dose de 2000mg/kg, o coração, pulmão, fígado e baço exibiram morfologia preservada. No entanto, o rim, na dose de 2000mg/kg apresentou células tubulares com citoplasma vacuolizado e núcleo central, compatível com degeneração hidrópica (cabeça da seta).

Esse achado indica que, ao microscópio, as células dos túbulos renais estão inchadas e com acúmulo anormal de líquido (vacúolos no citoplasma), mas ainda

mantêm seu núcleo na posição normal. Isso é característico de degeneração hidrópica, um tipo de lesão celular reversível que ocorre quando os rins sofrem agressão (Kiss, Hamar, 2016).

Em conclusão, não há evidências científicas publicadas que associem a administração oral de Δ_9 -THC à degeneração hidrópica. A análise histopatológica isolada não é conclusiva, destacando-se a necessidade de complementar a investigação com parâmetros funcionais e biomarcadores moleculares para monitorar com precisão essa possível alteração.

5.2 CANABIDIOL (CBD)

5.2.1 Ensaios *In Silico* CBD

Em suma, os métodos de toxicologia computacional fornecem suporte crítico para o estabelecimento de parâmetros seguros de dosagem em pesquisas pré-clínicas, permitindo a modelagem preditiva de valores de dose letal média (DL50). Sendo assim, essas abordagens *in silico* facilitam uma seleção mais informada de doses para experimentação subsequente *in vivo* (Lane, Harris, Urbina *et al.*, 2023).

Diante disso, ao se reduzir substancialmente a dependência de experimentação animal, essas metodologias computacionais apoiam diretamente e promovem a implementação dos princípios de Russell-Burch, amplamente conhecidos como os 3Rs (Substituição, Redução e Refinamento) (Hemmerich & Ecker, 2020). Essa abordagem diminui efetivamente o uso de animais, otimiza protocolos experimentais e substitui testes animais por métodos alternativos como modelagem *in silico*, garantindo assim padrões éticos e a preservação do bem-estar animal (Clark, 2018).

Frente a esse contexto, a ferramenta ADMETsar (tabela 18) mostrou que a substância (CBD) apresentou alta absorção intestinal e grande probabilidade de ser permeável a Caco-2. Essa linhagem celular, Caco-2, se diferencia como enterócitos do intestino delgado, demonstrando que a absorção provavelmente ocorre no intestino (Brown, Funk, Figueiroa *et al.*, 2024).

Diante do exposto, isso pode estar relacionado ao fato de que o Sistema Endocanabinoide desempenha um papel importante na regulação da atividade de

neurônios mioentéricos, da função vagal e nervos simpáticos, bem como na liberação de neuropeptídeos gastrointestinais (grelina e colecistocinina-8) (Cristino *et al.*, 2020).

Em contrapartida, a análise computacional apresentou baixa probabilidade de penetração na barreira hematoencefálica (BHE), o que contradiz os estudos, enfatizando que as análises *in silico* devem ser utilizadas como predição e devem ter seus resultados associados à estudos *in vitro* e *in vivo*.

Diante desse fato, estudos mostram que o CBD não só ultrapassa a barreira hematoencefálica devido a sua lipossolubilidade, como também pode modificar os efeitos deletérios na barreira causados por citocinas inflamatórias, podendo desempenhar um papel fundamental na melhora da sua disfunção consequente à isquemia, além de proteger a sua integridade (Calapai, Cardia, Sorbara *et al.*, 2020).

Dessa maneira, os testes ADMETsar (tabela 18), ProTox (tabela 19) e PASS Online (tabela 20) mostraram baixa probabilidade do composto ser substrato para o citocromo CYP3A4 (ADMETsar), e probabilidade maior do composto ser substrato para CYP2C9. Assim, para a ferramenta ADMETsar (tabela 18), o CYP2C9 tem 76% de chance de não ser substrato, enquanto que para o CYP2C19, apresenta 77% de ser não inibidor.

Como citado anteriormente, esses resultados sugerem uma predição, já que o CBD sofre metabolismo hepático principalmente através das isoenzimas CYP2C19 e CYP3A4, com envolvimento adicional de CYP1A1, CYP1A2, CYP2C9 e CYP2D6 (Lucas, Galettis, Schneider, 2018).

Em decorrência disso, essas diferenças de ativação/inibição podem afetar o metabolismo de fármacos mediado por esses CYPs (Zendulka, Dovrtelova, Nosková *et al.*, 2016). O CBD é conhecido por inibir várias enzimas do citocromo P450 e de certos transportadores de efluxo, o que pode levar a interações fármaco-fármaco (Gingrich, Choudhuri, Cournoyer *et al.*, 2023).

Sendo assim, um estudo de 2023 (Bansal, Zamarripa, Spindle e colaboradores) avaliou quantitativamente as potenciais interações farmacocinéticas entre fitocanabinoides e medicamentos em 18 adultos saudáveis, e evidenciou que os indivíduos que receberam coquetel de citocromo P450 (CYP) + CBD + Δ₉-THC inibiu a atividade de CYP2C19 > CYP2C9 > CYP3A > CYP1A2 (mas não de CYP2D6) enquanto quem recebeu o coquetel de CYP450 e só Δ₉-THC não inibiu

nenhum dos CYPs, evidenciando a importância das previsões *in silico* para a escolha dos alvos e confirmando a interação entre CBD e Δ₉-THC.

No entanto, existem dados limitados sobre a atividade farmacocinética dos metabólitos do CBD em humanos (Lucas, Galettis, Schneider, 2018), sendo necessários mais estudos *in vivo* para elucidar essas interligações.

Esses resultados podem ser usados para orientar o ajuste de dose de medicamentos consumidos concomitantemente com produtos de *Cannabis* (Yamaori, Kinugasa, Jiang *et al.*, 2015).

Outro resultado relevante é a alta probabilidade do composto apresentar imunotoxicidade, demonstrado pela ferramenta PROTOX (tabela 19). Dessa maneira, estudos demonstram em testes *in vitro* e *in vivo*, que o CBD apresentou efeitos imunotóxicos relevantes (Huestis, Solimini, Pichin *et al.*, 2019), inibindo amplamente funções da imunidade inata em modelos *in vivo*, como produção de citocinas e recrutamento celular (Martini, Gemma, Ferrari *et al.*, 2023).

Além disso, outro estudo revela resultados divergentes, embora o CBD tenha mostrado efeitos imunossupressores em doenças inflamatórias (como doença inflamatória intestinal, artrite reumatoide e distúrbios neurodegenerativos), também apresentou propriedades protetoras contra infecções virais, como a COVID-19 (Aziz, Nguyen, Oumeslakht *et al.*, 2023). No entanto, é crucial destacar que esses achados referem-se ao CBD sintético isolado, o que confirma o resultado *in silico*. Estudos futuros devem avaliar extratos que contêm outros fitocannabinoides e compostos naturais capazes de agir em conjunto, potencializando seus efeitos.

Adicionalmente, os resultados do PASS Online (tabela 20) evidenciaram 85% de chance do CBD apresentar atividade antieczemática, isto é, a sua capacidade de reduzir ou prevenir os sintomas de eczema, como inflamação, prurido e comprometimento da barreira cutânea (Baswan, Klosner, Glynn *et al.*, 2020).

Em síntese, um conjunto de evidências não-clínicas, demonstrou que o CBD reduziu significativamente o prurido em pacientes com dermatite atópica (Chaoul, Palazzo, Cinquantasei *et al.*, 2024), e reduziu significativamente a dermatite, de forma mais eficaz que a hidrocortisona (Wolińska, Zalewska, Poznański *et al.*, 2025).

Assim, esses achados indicam que a utilização tópica do CBD pode apresentar potencial terapêutico no manejo de distúrbios cutâneos, incluindo eczema, psoríase, prurido e processos inflamatórios cutâneos. Porém a eficácia

clínica e a elucidação dos mecanismos moleculares envolvidos não foram totalmente identificados.

Outro resultado demonstrou 71% de probabilidade da molécula ser um fator estimulante transcricional de NF-kappa B (tabela 20), embora alguns estudos sugiram o contrário. Diante desse fato, o CBD inibe a sinalização do NF- κ B e IFN- β , prevenindo a degradação de I κ B, reduzindo assim a ativação e translocação do NF- κ B, o que subsequentemente bloqueia a tradução de várias proteínas inflamatórias, incluindo a montagem do inflamassoma NLRP-3 e a produção resultante de citocinas pró-inflamatórias (Naya, Kelly, Corna *et al.*, 2024).

Em paralelo a esses efeitos, todos os testes mostraram baixo risco significativo de toxicidade, com a substância categorizada na Classe IV de toxicidade prevista (500 mg/kg DL50) (tabela 19), e classificada na Classe III de toxicidade aguda oral (2,696 mol/kg) (tabela 18) de acordo com a classificação GHS.

Esses dados de baixa toxicidade são parcialmente corroborados por evidências não experimentais, onde a DL50 oral do CBD em ratos foi estimada em 980 mg/kg por uma plataforma online. Essa empresa é especializada no desenvolvimento de reagentes para pesquisas em biologia celular e molecular, que com ferramentas digitais, calcula a IC50 e DL50 de compostos, disponível online. (AAT Bioquest, 2025).

Adicionalmente, em camundongos, doses únicas de 2460 mg/kg induziram hepatotoxicidade evidente, enquanto concentrações menores (246–738 mg/kg) aumentaram apenas a razão peso-fígado/corpo (Ewing, Skinner, Quick *et al.* 2019). Em contraste, estudos de doses repetidas (até 150 mg/kg/dia por 90 dias) não relataram efeitos adversos significativos, com alterações histopatológicas reversíveis no fígado e adrenais após 28 dias de descontinuação (Henderson, Lefever, Heintz *et al.*, 2023).

Já em estudos clínicos foram observados que, embora o CBD seja geralmente bem tolerado, foram reportadas alterações hepáticas (Huestis *et al.*, 2019) e efeitos sobre o sistema reprodutivo (Gingrich *et al.*, 2023). Os dados sugerem que o perfil toxicológico do CBD apresenta questões relevantes de segurança, destacando a necessidade de investigações adicionais sobre as composições variadas de canabinoides, fitocanabinoides e análogos.

5.2.1.1 AdmetSAR CBD

Tabela 18- Parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos (ADMET – Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) do canabidiol (C₂₁H₃₀O₂).

Modelo	Resultado	Probabilidade
Absorção		
Barreira Hematoencefálica	BBB+	0,6597
Absorção Intestinal Humana	HIA+	0,9937
Permeabilidade Caco-2	Caco2+	0,7346
Substrato da P-glicoproteína	Substrato	0,7090
Inibidor da P-glicoproteína	Inibidor	0,8388
	Não inibidor	0,7266
Distribuição		
Localização Subcelular	Mitocôndria	0,6845
Metabolismo		
Substrato do CYP450 2C9	Não substrato	0,7692
Substrato do CYP450 2D6	Não substrato	0,8362
Substrato do CYP450 3A4	Substrato	0,6359
Inibidor do CYP450 2C9	Inibidor	0,5679
Inibidor do CYP450 1A2	Inibidor	0,8010
Inibidor do CYP450 2D6	Não inibidor	0,7333
Inibidor do CYP450 2C19	Não inibidor	0,7725
Excreção		
Toxicidade		
Toxicidade AMES	Não tóxico (AMES)	0,9291
Carcinógenos	Não carcinógenos	0,7681
Toxicidade em Peixes	Alta toxicidade (FHMT)	0,9979
Toxicidade em Tetrahymena pyriformis	Alta toxicidade (TPT)	0,9987
Toxicidade em Abelhas	Alta toxicidade (HBT)	0,7372
Biodegradação	Não biodegradável	0,9651
Toxicidade Oral Aguda	Classe III	0,5953
Absorção		
Solubilidade Aquosa	-4,1012	LogS
Permeabilidade Caco-2	1,5625	LogPapp, cm/s
Toxicidade		
Toxicidade Aguda em Ratos	2,5031	LD ₅₀ , mol/kg
Toxicidade em Peixes	0,0641	pLC ₅₀ , mg/L
Toxicidade em Tetrahymena pyriformis	1,9076	pIGC ₅₀ , µg/L

Fonte: Dados da autora em colaboração com o prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho, 2023. Resultado considerado: acima de 70% de probabilidade.

5.2.1.2 ProTox CBD

Tabela 19- Resultados da predição de toxicidade oral (PROTOX) para o canabidiol (C21H30O2).

Categoría	Alvo Biológico	Predição	Probabilidade
Pontos finais de toxic	Imunotoxicidade	Ativo	0,93
Resposta ao estresse (Tox21)	Potencial de Membrana Mitocondrial	Ativo	0,83
Toxicidade orgânica	Toxicidade respiratória	Ativo	0,50
Pontos finais de toxic	Barreira hematoencefálica	Ativo	0,56
Pontos finais de toxic	Ecotoxicidade	Ativo	0,55
Metabolismo	CYP2C9	Ativo	0,69
Metabolismo	CYP3A4	Ativo	0,52
Dose Letal (LD50)	500 mg/kg	-	-
Classificação de Toxicidade	Classe IV	-	-

Fonte: Dados da autora em colaboração com o Prof. Dra. Micheline Freire Donato, 2023. Resultado considerado: acima de 70% de probabilidade.

5.2.1.3 PassOnline CBD

Tabela 20- Predição dos Espectros de Atividade (PASS) do canabidiol.

Pa	Pi	Atividade
0,915	0,009	Substrato do CYP2C12
0,849	0,010	Antieczemático
0,797	0,010	Substrato do CYP2C
0,788	0,007	Substrato do CYP2C9
0,757	0,005	Carminativo
0,714	0,004	Estimulante do fator de transcrição NF-kappa B
0,714	0,004	Estimulante de fator de transcrição
0,712	0,004	Anti-helmíntico
0,709	0,065	Inibidor da ubiquinol-citocromo-c redutase
0,701	0,031	Excitabilidade

Fonte: Dados da autora em colaboração com o Prof. Dra. Micheline Freire Donato, 2023. Pa- probabilidade de ser ativo. Pi- probabilidade de ser inativo. Resultado considerado: probabilidade Pa>0,7.

5.2.2 Ensaio toxicológico agudo (extrato integral rico em CBD)

5.2.2.1 MACHOS

5.2.2.1.1 Triagem farmacológica

Quadro 5- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração em camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

	Camundongo 1			Camundongo 2			Camundongo 3		
	30'	60'	120'	30'	60'	120'	30'	60'	120'
Catatonía					X				X
Perda do reflexo auricular		X	X		X	X		X	X
Perda do reflexo corneal		X	X		X	X			X
Perda de força para garrar	X	X	X		X	X			
Diminuição do movimento de vibrições	X	X		X	X	X			X

Os efeitos depressores sobre o SNC nos intervalos de 30, 60 e 120 minutos pós-administração, começaram, em sua maioria, 60 minutos após a administração, diferentemente dos efeitos do extrato rico em Δ_9 -THC. Poucos foram os efeitos do extrato rico em CBD quando comparados ao grupo tratado com Δ_9 -THC.

Isso pode estar correlacionado ao fato de que canabidiol pode inibir a sinalização intracelular dependente de Δ_9 -THC (Laprairie, Bagher, Kelly *et al.*, 2016) e atenuar a paranoia e os déficits de memória induzidos por Δ_9 -THC em humanos.

De certo, o CBD atua como modulador alostérico negativo do receptor CB1, interferindo na sinalização retrógrada endocanabinoide e reduzindo a supressão de excitação mediada pelo Δ_9 -THC ou endocanabinoides naturais (Straiker, Dvorakova, Zimmowitch *et al.*, 2018), o que explica os poucos efeitos depressores no SNC.

Além disso, o CBD pode atuar como agonista em canais como TRPV1 e receptores 5-HT_{1A}, contribuindo para seus efeitos ansiolíticos, antipsicóticos e neuroprotetores (De Almeida, Devi, 2020).

Em consonância com os resultados apresentados, uma meta-análise de 2024 examinou os efeitos agudos do CBD em desempenho cognitivo e psicomotor, concluindo que o CBD causou apenas um pequeno aumento na sedação subjetiva, sem impacto significativo em testes de desempenho (Lo, Christiansen, Strickland *et al.*, 2024).

Assim, um aspecto relevante a se considerar é a complexa composição química da *Cannabis*, que engloba, além de diversos fitocanabinoides, múltiplos compostos bioativos. Essa sinergia farmacológica demanda uma abordagem metodológica que avalie tanto os efeitos individuais quanto as interações moleculares entre esses componentes, particularmente considerando a capacidade

modulatória do CBD sobre os efeitos do Δ_9 -THC (Laprairie, Bagher, Kelly *et al.*, 2016).

5.2.2.1.2 Consumo de Água, Ração e Evolução Ponderal

Tabela 21- Avaliação do consumo de água e ração de camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

CONSUMO	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
Consumo água (mL)	30,43±2,91	32,00± 2,3	29,50±2,0
Consumo ração (g)	15,93±1,76*	19,07± 0,84	19,86±0,6

p*<0,05 em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

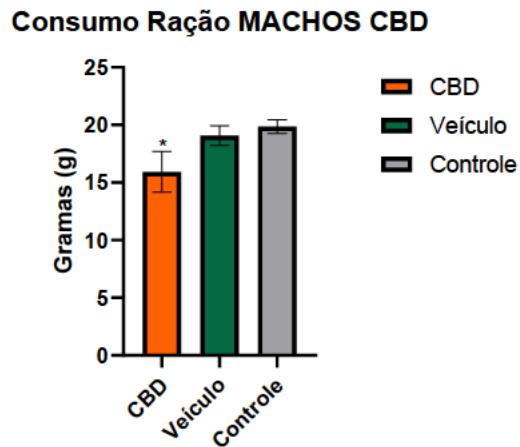


Gráfico 4- Consumo de ração de camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05.

Tabela 22- Avaliação da evolução ponderal de camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

EVOLUÇÃO PONDERAL	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
Tempo 0	36,00± 1,00	34,00± 2,08	36,33± 0,88
Tempo 1	34,67± 1,20	34,00± 1,73	39,00± 1,52
Tempo 2	37,33± 0,88	36,33± 2,96	41,33± 1,85

Dados expressos como média \pm erro padrão da média.

Estudos apontam que o CBD pode diminuir a ingestão de alimentos e promover redução do ganho de peso em ratos via mecanismos relacionados ao receptor CB2 e modulação negativa de receptores CB1 no hipotálamo (Pinto, Martel, 2022).

Já em administrações agudas, o CBD pode provocar uma redução significativa no consumo de alimento nas primeiras horas ou dias, a depender do experimento, não alterando o consumo total de energia (Ignatowska-Jankowska, Jankowski, Torczyńska *et al.*, 2011), como pode ser visto na análise da evolução ponderal sem diferenças estatísticas.

Adicionalmente, evidências clínicas demonstram que a inalação de *Cannabis* com alto teor de CBD induz maior saciedade e redução do desejo alimentar em indivíduos saudáveis, enquanto em populações pediátricas com síndromes epilépticas (Dravet e Lennox-Gastaut), o CBD oral apresenta frequente redução de apetite como efeito adverso relevante (Pinto, Martel, 2022).

Dessa forma, o efeito anorexígeno do CBD foi discutido previamente, e pesquisas confirmam que o CBD reduziu a ingestão alimentar total em ratos, especialmente ao comparar moléculas como o canabidiol, cannabinol e canabigerol (Farrimond, Whalley, Williams, 2012), confirmando os resultados obtidos.

Para concluir, os achados sugerem que o CBD exerce efeitos anorexígenos, particularmente em condições metabólicas sensíveis como obesidade. Esses efeitos parecem ser mediados pela ativação de receptores endocanabinoides (especialmente CB2) e modulação de vias orexigênicas (Pinto, Martel, 2022), embora os mecanismos exatos necessitem de investigação mais aprofundada.

5.2.2.1.3 Parâmetros Hematológicos

Tabela 23- Avaliação hematológica do sangue camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

HEMOGRAMA	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
HEMÁCIAS (milh/mm ³)	8080 \pm 253,20	8193 \pm 257,30	8293 \pm 389,70
HEMATÓCRITO (g/dl)	43,67 \pm 1,67	44,67 \pm 1,45	44,67 \pm 2,03

HEMOGLOBINA (%)	13,73± 0,26	14,10± 0,47	14,27±0,54
V.C.M (f L)	54,70± 0,49	55,47± 0,53	54,63±0,24
H.C.M (%)	16,93± 0,22	17,03± 0,06	17,20±0,26
C.H.C.M (pg)	31,07± 0,49	31,00± 0,15	31,37±0,34
LEUC. T. (mm³)	3,63± 0,55*	8,43± 2,15**	6,00±0,88
SEGMENTADOS	19,00± 2,08	17,00± 7,81	13,33±0,88
EOSINÓFILOS	1,33± 0,67	0,33±0,33	1,66±1,20
BASÓFILOS	0	0	0
LINFÓCITOS	78,00± 3,78	82,00± 7,81	85,00±2,08
MONÓCITOS	0	0	0
PLAQUETAS (mm³)	986±74,50	1053± 48,45	1070±45,73

Volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina celular média (HCM), concentração média de hemoglobina corpuscular celular (CHCM). $p^* < 0,05$ em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

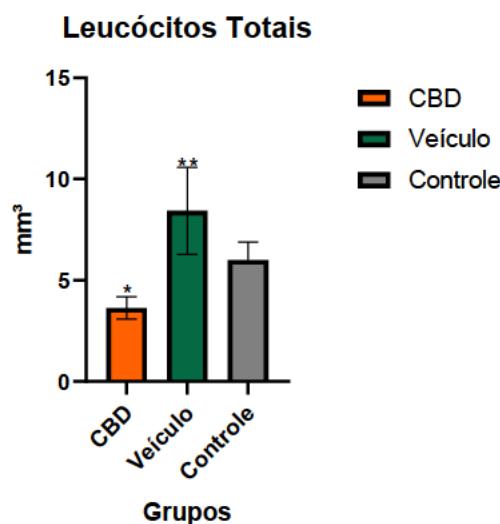


Gráfico 5- Leucócitos totais de camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). $p^* < 0,05$.

Conforme demonstrado anteriormente o óleo de milho exibe efeitos inflamatórios (Gokulan, Kumar, Lahiani *et al.*, 2021), evidenciados pelo aumento significativo de leucócitos no grupo veículo, marcador consistente para estes processos.

De modo geral, leucócitos (como neutrófilos e macrófagos) iniciam o processo inflamatório, enquanto diferentes subtipos (mono e linfócitos) participam da resolução e da manutenção da resposta inflamatória crônica (Filep, 2021). Logo, camundongos tratados com óleo de milho apresentam contagem de leucócitos um pouco mais elevada (Hubbard, Chen, Boyd, 2017), corroborando com os resultados deste estudo.

Em contrapartida, animais que receberam o extrato rico em CBD apresentaram uma redução significativa no número de leucócitos. Um estudo administrou CBD a 5 mg/kg, causando uma redução significativa no número total de leucócitos, especialmente nas subpopulações de linfócitos T e B, bem como em células T auxiliares e T citotóxicas (Ignatowska-JankowskaJankowski, Glac, Swiergel, 2009), confirmando os dados obtidos.

Porém, relatos na literatura sobre a leucopenia causada pelo CBD, além de escassos, não definem se essa diminuição de leucócitos afeta somente machos, já que fêmeas não apresentam tal diferença significativa (tabela 30).

Algumas evidências mostram que CBD pode alterar a viabilidade e função de neutrófilos, sugerindo um possível papel imunossupressor, o que poderia promover um eventual estado de indefesa durante o tratamento crônico (Gómez, Lairion, Repetto, Ettcheto *et al.*, 2021), indicando a necessidade de abordagens experimentais mais robustas para o esclarecimento destes resultados.

5.2.2.1.4 Parâmetros Bioquímicos

Tabela 24- Avaliação bioquímica do sangue camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

TESTES BIOQUÍMICOS	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
ALBUMINA g/dL	2,62± 0,12	2,55± 0,08	2,61± 0,15
ALT U/L	32,33± 0,67	46,33± 17,38	33,67±5,17
AST U/L	77,00± 3,51	90,33± 13,17	128,0± 17,04
COLESTEROL mg/dL	119,70± 3,84	133,3± 9,26	125,0± 8,96
FOSFATASE AL. U/L	224,00± 2,64	240,0± 32,13	200,7± 14,11
GLICOSE mg/dL	426,7± 68,23	393,7± 12,57	473,7± 32,31
HDL mg/dL	87,00± 2,00	103,3± 2,40	98,00± 5,29

LDH mg/dL	556,00± 48,91	579,0± 101,0	803,3± 23,38
LACTATO mg/dL	86,00± 11,02	76,33± 25,90	54,33± 3,48
TRIGLICER. mg/dL	161,00± 34,60	131,0± 42,00	119,3± 23,97
URÉIA mg/dL	82,33± 11,70	107,0± 7,55	104,0± 3,60

Alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL), lipoproteína de alta densidade (HDL), lactato desidrogenase (LDH).

Dados expressos como média ± erro padrão da média.

Alguns resultados sem diferença estatística chamam atenção em relação ao grupo controle (solução salina). O aumento da enzima aspartato aminotransferase (AST) e da lipoproteína de alta densidade (LDH) sugerem estresse metabólico intenso.

A escolha de camundongos (*Mus musculus*) como modelos experimentais é amplamente respaldada por sua notável similaridade genética e fisiológica com humanos. Estima-se que aproximadamente 90% dos genes humanos possuem homólogos funcionais no genoma murino, incluindo cerca de 15.000 genes conservados envolvidos em processos biológicos essenciais. Além disso, a existência de linhagens isogênicas (como os camundongos BALB/c e C57BL/6) e a facilidade de manipulação genética (via CRISPR-Cas9, por exemplo) reforçam sua utilidade na modelagem de doenças e no teste de intervenções terapêuticas (Ruberte, Schofield, Sundberg *et al.*, 2023).

Ainda sim, camundongos são altamente sensíveis ao estresse induzido por manejo inadequado (Ghosal, Nunley, Mahbod, 2015) e protocolos de jejum rígidos ou irregulares podem levar a alterações nas enzimas bioquímicas, estresse metabólico e inflamação, afetando negativamente o metabolismo da glicose (Lee, Lee, Jun, 2018), como constatado em todos os grupos neste experimento.

Dessa maneira, o ideal é que se faça manejo não aversivo para reduzir o estresse e melhorar os desfechos metabólicos (Ghosal, Nunley, Mahbod, 2015), além de manter o jejum em até 6 horas, sendo o mais recomendado para proporcionar a consistência metabólica e minimizar o estresse experimental. Jejuns mais prolongados podem gerar efeitos metabólicos excessivos e de difícil controle (Fu, Liu, Li *et al.*, 2024).

5.2.2.1.5 Parâmetros Anatomopatológicos

Tabela 25- Peso dos órgãos de camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

PESO DOS ÓRGÃOS (g)	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
Coração	0,16± 0,00	0,17± 0,02	0,16± 0,01
Pulmão	0,24± 0,02	0,24± 0,02	0,24± 0,02
Rim Direito	0,24± 0,00	0,24± 0,03	0,25± 0,02
Rim Esquerdo	0,23± 0,00	0,26± 0,01	0,25± 0,03
Baço	0,11± 0,00	0,13± 0,01	0,11± 0,01
Fígado	2,13± 0,05	2,25± 0,20	2,08± 0,17
Estômago	0,71± 0,02	0,71± 0,06	0,65±0,07
Intestino	2,05± 0,16	1,98± 0,20	1,86± 0,15
Sistema Reprodutivo	2,34± 0,10	1,86± 0,09*	2,68± 0,31

p*<0,05 em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

Peso Sistema Reprodutor

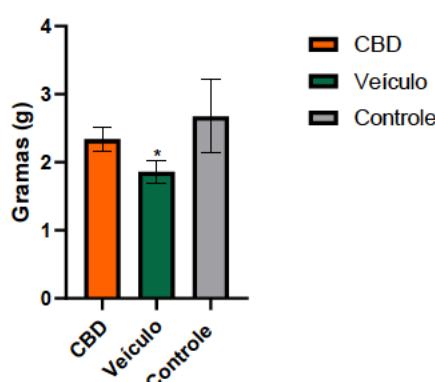


Gráfico 6- Peso do sistema reprodutor em gramas de camundongos Swiss machos (n=3). Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05.

O grupo veículo (óleo de milho) apresentou redução significativa no peso do sistema reprodutor quando comparado tanto ao grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em Δ₉-THC quanto ao grupo tratado com extrato rico em CBD

($p<0,05$). Estes resultados corroboram a hipótese anteriormente discutida de que o veículo utilizado pode induzir efeitos inflamatórios que comprometem o desenvolvimento do sistema reprodutor dos animais (Gokulan, Kumar, Lahiani *et al.*, 2021).

Tabela 26- Altura dos órgãos de camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

ALTURA DOS ÓRGÃOS (cm)	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
Coração	0,90± 0,06	0,93± 0,03	0,83± 0,03
Pulmão	1,47± 0,03*	1,26± 0,03	1,23± 0,03
Rim Direito	1,10± 0,00	1,03± 0,07	1,06± 0,03
Rim Esquerdo	1,13± 0,03	1,17± 0,03	1,13± 0,03
Baço	1,57± 0,03	1,83± 0,09*	1,60± 0,00
Fígado	2,43± 0,03	2,43± 0,03	2,37± 0,07
Estômago	1,60± 0,00*	1,47± 0,03	1,40± 0,06

$p^*<0,05$ em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

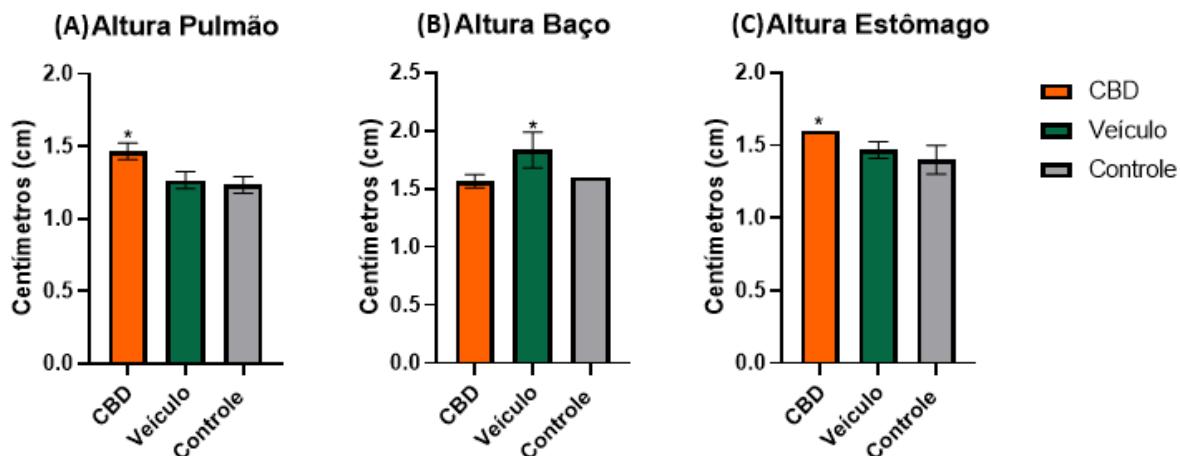


Gráfico 7- Altura em centímetros do pulmão (A), baço (B) e estômago (C) de camundongos Swiss machos (n=3). Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). $p^*<0,05$.

O aumento significativo na altura do baço observado no grupo veículo (óleo de milho) (gráfico 7B) corrobora os achados anteriores, sugerindo um processo inflamatório sistêmico induzido pelo veículo. Este resultado está em concordância com a hipótese previamente estabelecida sobre os efeitos pró-inflamatórios do óleo de milho no modelo experimental.

Estudos que compararam os efeitos do óleo de milho e azeite de oliva constataram um aumento na concentração de ferro no baço, além de aumento de cálcio no fígado e baço. Alterações no conteúdo mineral sugerem respostas metabólicas/inflamatórias que podem preceder alterações estruturais como as observadas neste experimento (Milin, Domitrović, Tota *et al.*, 2001). Contudo, a relação causal direta entre estas alterações bioquímicas e as manifestações histopatológicas requer investigação mais aprofundada.

Adicionalmente, o grupo tratado (CBD 2000mg/kg) apresentou maior altura pulmonar (gráfico 7A) e maior altura estomacal (gráfico 7C) quando comparado aos outros grupos.

A literatura documenta as propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes dos fitocanabinoides, particularmente do CBD (Kicman, Toczek, 2020).

Estudos experimentais demonstram a capacidade do CBD em modular a resposta inflamatória pulmonar, com redução significativa de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF- α) tanto no tecido pulmonar quanto em modelos de lesão pulmonar aguda (Ribeiro, Almeida, Costola-de-Souza *et al.* 2014).

Deste modo, o aumento da área pulmonar pode estar associada ao efeito vasorrelaxante nos vasos pulmonares que o CBD pode causar (Krzyżewska, Baranowska-Kuczko, Jastrzab *et al.*, 2022).

Paralelamente, foi identificado um aumento na altura gástrica no grupo tratado com CBD (gráfico 7C) que possivelmente pode estar associado a uma menor ingestão alimentar durante o período experimental. Porém, não foram encontradas evidências na literatura que correlacionem diretamente esses dois parâmetros.

Tabela 27- Largura dos órgãos de camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

LARGURA DOS ÓRGÃOS (cm)	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
----------------------------	-----	---------	----------

Coração	0,53± 0,03	0,53± 0,03	0,47± 0,03
Pulmão	0,97± 0,03	0,90± 0,00	0,93± 0,03
Rim Direito	0,63± 0,03	0,57± 0,03	0,57± 0,03
Rim Esquerdo	0,57± 0,07	0,60± 0,00	0,57± 0,03
Baço	0,43± 0,03	0,47± 0,03	0,40± 0,00
Fígado	2,00± 0,06	2,10± 0,00	2,00± 0,06
Estômago	1,00± 0,06	1,00± 0,00	0,97± 0,03

Dados expressos como média ± erro padrão da média.

5.2.2.1.6 Parâmetros Histopatológicos

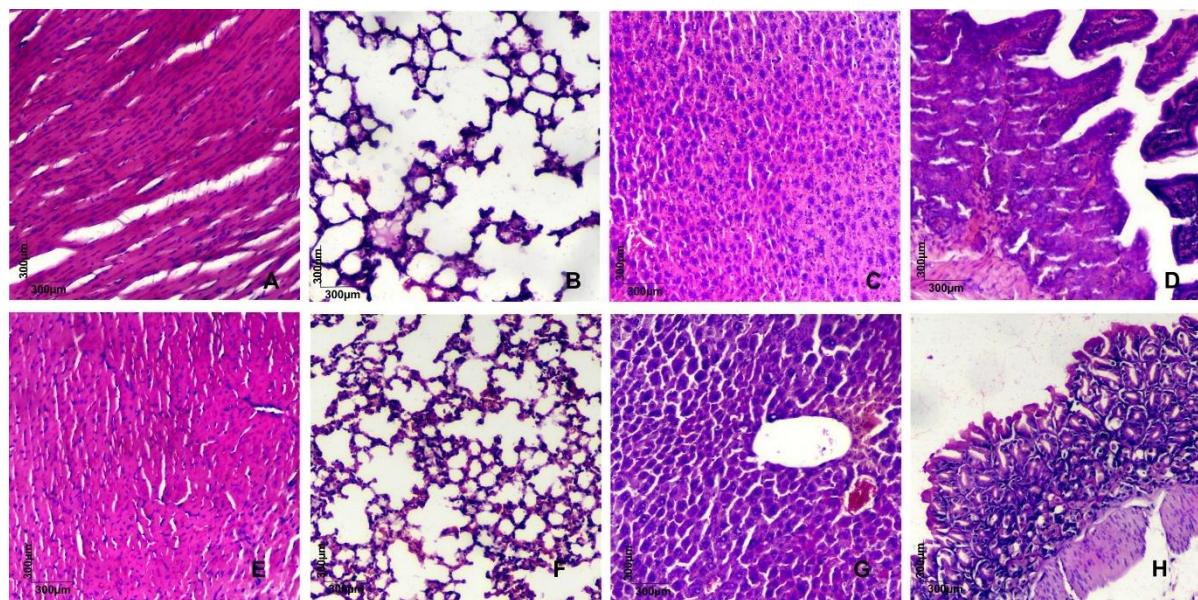


Figura 15- Cortes histológicos dos órgãos de camundongos Swiss machos (n=3) tratados com extrato de *Cannabis* rico em CBD e óleo de milho.

Cortes histológicos de coração (A e E), pulmão (B e F), fígado (C e G) e cólon (D e H) na objetiva de 10x, corados com HE. Sendo A, B, C e D grupo CBD e E, F, G, H grupo óleo de milho.

Observa-se que nas condições experimentais avaliadas, substância e controle veículo, há preservação morfológica de todos os órgãos avaliados, com ausência de alterações inflamatórias, vasculares ou degenerativas.

5.2.2.2 FÊMEAS

5.2.2.2.1 Triagem Farmacológica

Quadro 6- Avaliação dos efeitos comportamentais pós-administração em camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

	Camundongo 1			Camundongo 2			Camundongo 3		
Tempo	30'	60'	120'	30'	60'	120'	30'	60'	120'
Perda do reflexo auricular		X	X				X	X	X
Perda do reflexo corneal		X	X						X
Perda de força para garrar				X			X		
Diminuição do movimento de vibriças	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Os efeitos depressores sobre o SNC apresentaram início de ação em 30 minutos pós-administração, com persistência nos intervalos subsequentes de 60 e 120 minutos, seguidos de completa remissão após este período. Contudo, o extrato rico em CBD demonstrou efeitos significativamente menores quando comparado ao grupo tratado com Δ_9 -THC.

Curiosamente, as fêmeas apresentaram menos efeitos depressores quando comparado aos machos, com menos perda de reflexo corneal e auricular e quase nenhuma perda de força para agarrar. Buscando correlações na literatura, foi evidenciado que as fêmeas metabolizam o CBD em formas inativas com maior eficácia ao longo do tempo (MacNair, Kulpa, Hill, *et al.*, 2024). Esse metabolismo diferencial poderia explicar a menor intensidade dos efeitos comportamentais observados.

Adicionalmente, uma revisão demonstrou que fêmeas apresentam maiores concentrações plasmáticas e hepáticas de CBD, além de acumularem, a nível tecidual, mais CBD no fígado (Matheson, Bourgault, Le Foll, 2022). Este perfil de distribuição diferenciado pode explicar as discretas elevações nos níveis das enzimas hepáticas ALT e AST observadas, embora tais variações tenham permanecido dentro dos limites sem apresentar diferença estatística.

5.2.2.2.2 Consumo de Água, Ração e Evolução Ponderal

Tabela 28- Avaliação do consumo de água e ração de camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

CONSUMO	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
Consumo água (mL)	32,64±2,53	37,86± 2,72	32,57±2,21
Consumo ração (g)	16,57±1,30*	20,64±1,00	20,29±1,04

p*<0,05 em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

Consumo Ração FÊMEAS CBD

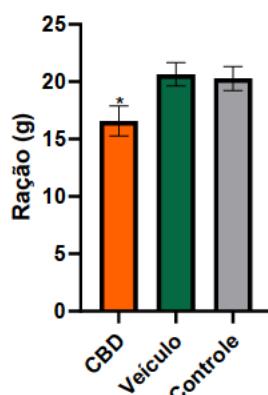


Gráfico 8- Consumo de ração de camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05.

Embora o efeito anorexígeno do CBD tenha sido consistentemente documentado neste estudo, persiste uma lacuna significativa na literatura quanto à possível base molecular deste fenômeno. Um estudo *in vitro* focado em células hipotalâmicas descreve que o CBD inibe a expressão do neuropeptídeo Y (NPY), envolvido na regulação do apetite, e atua como modulador alostérico negativo do receptor CB1, sugerindo um mecanismo de ação. Além de modular aminas biogênicas, como serotonina (5-HT) e norepinefrina (NE), fortalecendo a hipótese de redução do apetite via mecanismos centrais (Di Giacomo, Chiavaroli, Orlando *et al.*, 2020).

Tabela 29- Avaliação da evolução ponderal de camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

EVOLUÇÃO PONDERAL	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
Tempo 0	31,67±1,76	39,00±1,52	34,00±2,08
Tempo 1	32,00±0,57	31,67±1,33	34,00±1,73
Tempo 2	33,67±0,88	31,33±0,88*	38,00±2,08

p*<0,05 em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

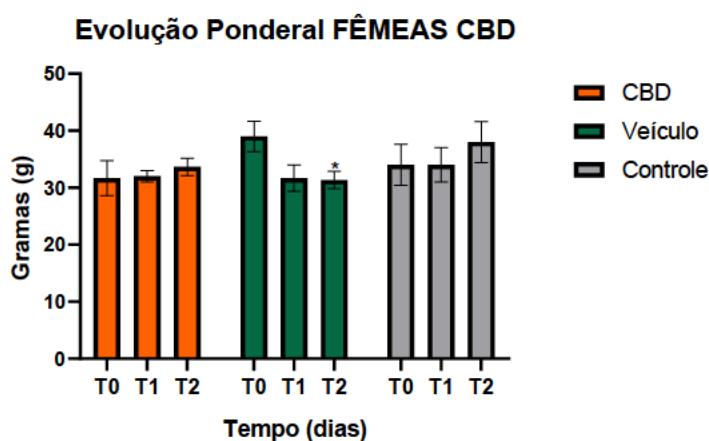


Gráfico 9- Evolução ponderal de camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05.

5.2.2.2.3 Parâmetros Hematológicos

Tabela 30- Avaliação hematológica do sangue de camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

HEMOGRAMA	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
HEMÁCIAS (milh/mm³)	7020± 46,18	7350± 70,00	7730± 28,00
HEMATÓCRITO (g/dl)	38,50± 0,29	40,50± 0,50	42,00± 1,00
HEMOGLOBINA (%)	12,80± 0,00	13,35± 0,50	13,55± 2,50
V.C.M (f L)	55,45± 0,32	55,50± 0,10	54,80± 1,00
H.C.M (%)	18,20± 0,12	18,15± 0,25	17,50± 0,30
C.H.C.M (pg)	32,75± 0,43	32,70± 0,40	32,00± 0,00
LEUC. T. (mm³)	5,10± 6,35	5,35± 4,50	7,30± 1,30
SEGMENTADOS	21,00± 0,00	20,00± 10,00	19,50± 7,50
EOSINÓFILOS	2,50± 0,29	0	1,00± 0,00

BASÓFILOS	0	0	0
LINFÓCITOS	75,00± 1,16	80,00± 10,00	79,50± 7,50
MONÓCITOS	0	0	0
PLAQUETAS (mm³)	778,00± 31,18	859± 11,10	1053± 0,00

Volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina celular média (HCM), concentração média de hemoglobina corpuscular celular (CHCM). Dados expressos como média ± erro padrão da média.

5.2.2.2.4 Parâmetros Bioquímicos

Tabela 31- Avaliação bioquímica do sangue de camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

TESTES BIOQUÍMICOS	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
ALBUMINA g/dL	174,67± 6,17	161,67± 21,07	160,00± 17,32
ALT U/L	133,33± 9,53	81,33± 5,36	94,00± 1,53
AST U/L	72,67± 4,06	56,33± 4,91	57,33± 3,53
COLESTEROL mg/dL	131,00± 10,02	89,67± 4,63	109,33± 7,42
CREATININA mg/dL	37,33± 0,34	31,33± 2,03	36,67± 2,03
FOSFATASE AL. U/L	174,67± 20,00	318,00± 60,02*	193,33± 33,35
GLICOSE mg/dL	390,00± 49,17	400,67± 46,69	319,00± 36,56
HDL mg/dL	79,33± 6,74	52,33± 11,84	90,00± 3,46
LDH mg/dL	534,67± 8,20	762,33± 77,58	1021,33± 27,36
LACTATO mg/dL	87,00± 13,08	74,33± 14,25	103,00± 9,24
TRIGLICERÍDIOS mg/dL	98,00± 12,10	100,67± 10,91	114,67± 17,40
URÉIA mg/dL	51,33± 1,20	50,33± 6,89	27,00± 17,21

Alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL), lipoproteína de alta densidade (HDL), lactato desidrogenase (LDH).

p*<0,05 em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

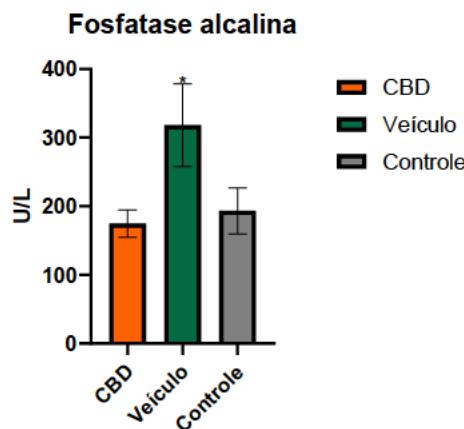


Gráfico 10- Fosfatase alcalina de camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05.

5.2.2.2.5 Parâmetros Anatomopatológicos

Tabela 32- Peso dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

PESO DOS ÓRGÃOS (g)	CBD	VEÍCULO	CONTROLE
Coração	0,14± 0,00	0,17± 0,02	0,14± 0,01
Pulmão	0,19± 0,01	0,25± 0,02	0,23± 0,01
Rim Direito	0,18± 0,00	0,21± 0,00	0,20± 0,02
Rim Esquerdo	0,17± 0,00	0,21± 0,01	0,18± 0,00
Baço	0,12± 0,02	0,15± 0,01	0,14± 0,02
Figado	1,72± 0,08	2,08± 0,14	1,98± 0,33
Estômago	0,58± 0,05	0,80± 0,06	0,65± 0,07
Intestino	1,72± 0,09	2,17± 0,08*	1,77± 0,19
Sistema Reprodutivo	1,22± 0,17	1,13± 0,18	1,07± 0,05

p*<0,05 em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

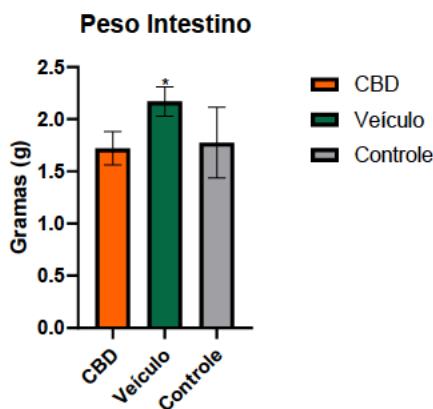


Gráfico 11- Peso do intestino em gramas de camundongos Swiss fêmeas (n=3). Grupo tratado com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg, grupo veículo (óleo de milho) e grupo controle (solução salina). p*<0,05.

Os resultados obtidos nas fêmeas deste estudo revelaram efeitos adversos no grupo veículo em comparação ao grupo tratado com CBD. O grupo veículo apresentou elevação significativa nos níveis de fosfatase alcalina (gráfico 10), aumento no peso intestinal (gráfico 11), possivelmente associado a processos inflamatórios, bem como uma progressiva perda de peso corporal ao longo do período experimental de 14 dias (gráfico 9), refletindo um comprometimento metabólico amplo.

A literatura científica reporta que os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), constituintes do óleo de milho exercem influência significativa no metabolismo de roedores. Evidências demonstram que esses compostos lipídicos promovem redução ponderal em modelos murinos (Go, Hwang, Park *et al.* 2016), concomitantemente à interferência nos processos absorтивos intestinais. Estudos indicam que essas PUFAs atuam como fator limitante na assimilação de micronutrientes essenciais, incluindo carotenoides, vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e minerais como cálcio e fósforo (Trovato, Nuhlicek, Midtling, 1991), o que pode explicar o aumento do peso intestinal no presente estudo.

Ademais, em camundongos, alterações na comunidade bacteriana ileal e modificações na expressão de genes relacionados à permeabilidade intestinal e resposta imune na mucosa ileal (Gokulan, Kumar, Lahiani *et al.*, 2021) podem explicar o peso maior do órgão.

Em acréscimo, evidências confirmam que o consumo excessivo de ácidos graxos poli-insaturados ômega-6 (n-6 PUFAs), abundantes no óleo de milho, causam anormalidades na microbiota intestinal e piora a colite em camundongos (DeCoffe, Quin, Gill *et al*, 2016), e os ácidos graxos ômega-3 aumentam diretamente a fosfatase alcalina no tecido intestinal (Lallès, 2019), evidenciando a ligação entre altos níveis de FAL, aumento do peso intestinal e perda de peso corporal nessas fêmeas ao longo do experimento.

Em suma, as evidências apresentadas neste estudo levantaram questões pertinentes e foram discutidas. No entanto, é essencial considerar o uso de óleo de milho, como veículo com cautela, pois seus efeitos potenciais devem ser cuidadosamente avaliados, além de considerar também a via de administração, a concentração da substância e a duração da administração (Costa *et al.*, 2025).

Desta maneira, uma investigação recente relatou alterações significativas nos níveis das enzimas ALT, AST e FAL após a administração de extrato rico em CBD em altas doses. No entanto, a ausência de alterações em outros marcadores bioquímicos sugere que fitocanabinoides, especialmente o canabidiol (CBD), apresentam um perfil de segurança favorável em vários modelos animais nas concentrações testadas, sem evidência de toxicidade (Costa *et al.*, 2025).

Tabela 33- Altura dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

ALTURA DOS ÓRGÃOS (cm)	CBD	CONTROLE VEÍCULO	SOLUÇÃO SALINA
Coração	0,93± 0,03	0,83± 0,03	0,90± 0,05
Pulmão	1,16± 0,03	1,26± 0,03	1,30± 0,00
Rim Direito	0,93± 0,03	1,00± 0,00	1,00± 0,06
Rim Esquerdo	1,00± 0,06	1,03± 0,03	1,00± 0,00
Baço	1,66± 0,06	1,86± 0,88	1,83± 0,07
Fígado	2,33± 0,03	2,33± 0,03	2,46± 0,03
Estômago	1,36± 0,07	1,40± 0,00	1,40± 0,10

p*<0,05 em comparação ao grupo controle por ANOVA bidirecional seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett. Dados expressos como média ± erro padrão da média.

Tabela 34- Largura dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD na dose de 2000 mg/Kg.

LARGURA DOS ÓRGÃOS (cm)	CBD	CONTROLE VEÍCULO	SOLUÇÃO SALINA
Coração	0,50± 0,00	0,47± 0,03	0,50± 0,00
Pulmão	0,93± 0,03	0,93± 0,03	1,03± 0,07
Rim Direito	0,47± 0,03	0,57± 0,03	0,50± 0,00
Rim Esquerdo	0,43± 0,03	0,57± 0,03	0,50± 0,00
Baço	0,43± 0,03	0,40± 0,00	0,50± 0,00
Fígado	1,97± 0,03	2,00± 0,06	2,07± 0,03
Estômago	1,03± 0,03	0,97± 0,03	1,10± 0,10

Dados expressos como média ± erro padrão da média.

5.2.2.2.6 Parâmetros Histopatológicos

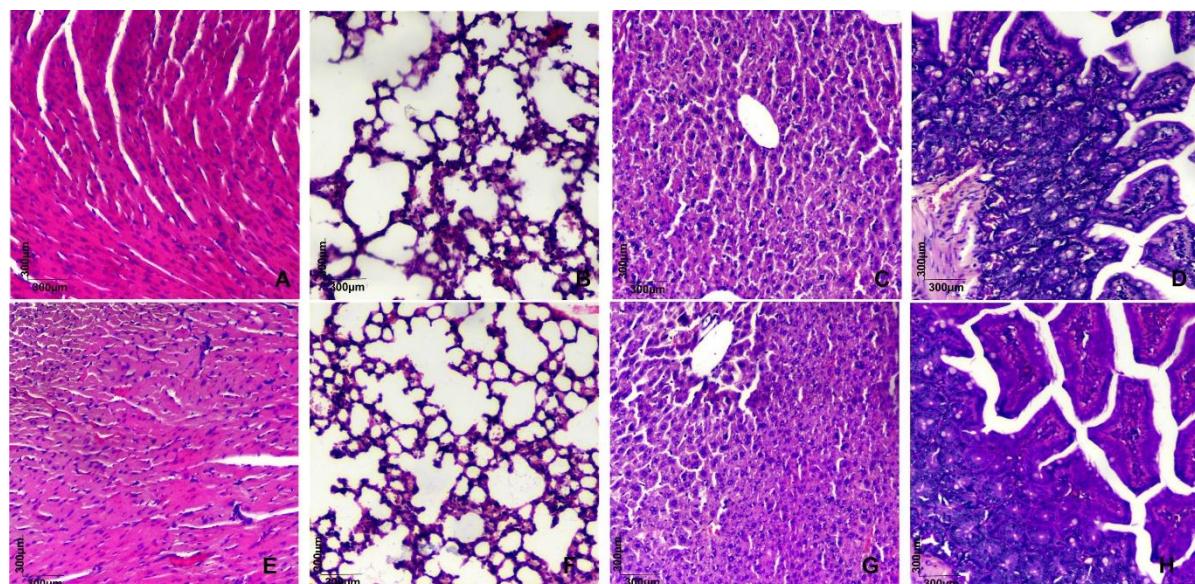


Figura 16- Cortes histológicos dos órgãos de camundongos Swiss fêmeas (n=3) tratadas com extrato de *Cannabis* rico em CBD e óleo de milho. Cortes histológicos de coração (A e E), pulmão (B e F), fígado (C e G) e cólon (D e H) na objetiva de 10x, corados com HE. Sendo A, B, C e D grupo CBD e E, F, G, H grupo óleo de milho.

Cortes histológicos de coração, pulmão, fígado e cólon nas diferentes condições experimentais. Observa-se que nas condições experimentais avaliadas,

extrato rico em CBD e controle veículo (óleo de milho), apresentaram preservação morfológica de todos os órgãos avaliados, com ausência de alterações inflamatórias, vasculares ou degenerativas.

6 CONCLUSÃO

Os achados desta pesquisa destacam aspectos relevantes sobre a toxicidade aguda dos extratos de *Cannabis* ricos em Δ₉-THC e CBD, bem como do óleo de milho, apontando para importantes considerações:

- **Confirmação *in silico*:** os ensaios computacionais validaram alvos moleculares importantes, auxiliando na interpretação dos dados e no direcionamento das pesquisas.
- **Potenciais diferenças de gênero na toxicidade do extrato rico em Δ₉-THC:** fêmeas demonstraram maior susceptibilidade à toxicidade do extrato, possivelmente devido à maior exposição ao metabólito ativo 11-OH-THC, sugerindo implicações para tolerância e interações medicamentosas via inibição de CYP450.
- **Efeitos imunossupressores do extrato rico em CBD:** observou-se leucopenia apenas em machos, sugerindo que o CBD pode ter um papel imunomodulador dependente do sexo, já que fêmeas metabolizam o composto mais eficientemente.
- **Ação anorexígena do extrato rico em CBD:** o extrato rico em CBD comprovou reduzir o apetite, porém são necessários mais estudos para determinar quando esse efeito se torna adverso.
- **Toxicidade do óleo de milho:** mesmo em administração aguda, o óleo de milho mostrou efeitos preocupantes. Os resultados demonstram elevação no perfil inflamatório, como aumento de marcadores inflamatórios (FAL), alterações no peso intestinal e corporal, além de possíveis impactos no desenvolvimento do sistema reprodutor.

Tomados em conjunto, esses dados fornecem a hipótese de que os extratos de *Cannabis sativa* avaliados apresentam um perfil de segurança favorável sob condições de exposição aguda, sem evidências de toxicidade significativa. Entretanto, estudos toxicológicos mais abrangentes são necessários para consolidar esses achados, incluindo avaliação de toxicidade aguda e crônica em diferentes

doses, comparação entre vias de administração e caracterização do efeito comitiva entre os compostos da *Cannabis sativa*.

Dessa maneira, a abordagem metodológica utilizada é fundamental para transformar evidências não-clínicas em diretrizes terapêuticas seguras, assegurando que o potencial terapêutico da *Cannabis sativa* seja aproveitado com o necessário rigor científico.

7 PERSPECTIVAS

No contexto brasileiro, os achados desta pesquisa podem subsidiar futuras regulamentações da ANVISA, oferecendo subsídios técnico-científicos que reforçam a importância de avaliações toxicológicas detalhadas para produtos medicinais à base de *Cannabis*. Ao apontar para o potencial terapêutico e sugerir precauções em grupos distintos, como mulheres e pacientes em uso de polifarmácia, esta pesquisa pode influenciar a construção de critérios regulatórios pautados nas evidências, impulsionando o desenvolvimento de formulações mais seguras, eficazes e alinhadas com as demandas terapêuticas e científicas do país.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, I. B., MARTIN, B. R. Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans. **Addiction**, v. 91, n. 11, p. 1585-1614, 1996.
- ADEBAL, A. F., DÉLIO, C., DIAS, M. B. Toxicologia na prática clínica. **Belo Horizonte: Folium**, 2001.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 327, de 9 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os procedimentos para a concessão da Autorização Sanitária para a fabricação e importação, bem como estabelece requisitos para a comercialização, prescrição e fiscalização de produtos de *Cannabis* para fins medicinais. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 10 dez. 2019.
- ALMEIDA, R. N. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no sistema nervoso central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 80, p. 72-76, 1999.
- AMARAL, C. et al. Unveiling the mechanism of action behind the anti-cancer properties of cannabinoids in ER+ breast cancer cells: Impact on aromatase and steroid receptors. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 210, p. 105876, 2021.
- ANAND, U. et al. Cannabis-based medicines and pain: A review of potential synergistic and entourage effects. **Pain management**, 11(4), p.395-403, 2021.
- AN, D. et al. Targeting cannabinoid receptors: current status and prospects of natural products. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 14, p. 5064, 2020.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/anvisa-aprova-mais-tres-produtos-de-cannabis-para-uso-medicinal> Acesso em: julho 2023.
- ANVISA. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos Brasília: Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia – **GESEF**, 2013.
- ARKELL, T. R. et al. Sex differences in acute cannabis effects revisited: Results from two randomized, controlled trials. **Addiction biology**, v. 27, n. 2, p. e13125, 2022.

AAT Bioquest, Quest Database™ Cannabidiol Toxicity (LD50). AAT Bioquest. Inc. (2025, August 14). <https://www.aatbio.com/resources/toxicity-lethality-median-dose-td50-ld50/cannabidiol> Acesso em 15 de julho de 2025.

AYMERICH, M. S. et al. Cannabinoid pharmacology/therapeutics in chronic degenerative disorders affecting the central nervous system. **Biochemical pharmacology**, v. 157, p. 67-84, 2018.

AZIZ, A. et al. Cannabinoids as immune system modulators: cannabidiol potential therapeutic approaches and limitations. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 8, n. 2, p. 254-269, 2023.

BALAFREJ, T. et al. Acute oral toxicity of Cannabis sativa L. co-products in mice. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 15, n. 3, p. 11591-11591, 2023.

BANERJEE, P. et al. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. **Nucleic acids research**, v. 46, n. W1, p. W257-W263, 2018.

BANSAL, S. et al. Evaluation of cytochrome P450-mediated cannabinoid-drug interactions in healthy adult participants. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 114, n. 3, p. 693-703, 2023.

BARRALES-CUREÑO, H. et al. Chemical characteristics, therapeutic uses, and legal aspects of the cannabinoids of Cannabis sativa: a review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, p. e20190222, 2020.

BARROSO, A. et al. The aryl hydrocarbon receptor and the gut–brain axis. **Cellular & molecular immunology**, v. 18, n. 2, p. 259-268, 2021.

BASWAN, S. M. et al. Therapeutic potential of cannabidiol (CBD) for skin health and disorders. **Clinical, cosmetic and investigational dermatology**, p. 927-942, 2020.

BEN-SHABAT, S. et al. An entourage effect: inactive endogenous fatty acid glycerol esters enhance 2-arachidonoyl-glycerol cannabinoid activity. **European journal of pharmacology**, v. 353, n. 1, p. 23-31, 1998.

BLESSING, E. M. et al. Cannabidiol as a potential treatment for anxiety disorders. **Neurotherapeutics**, v. 12, n. 4, p. 825-836, 2015.

BLOEMENDAL, V., VAN HEST, J., RUTJES, F. Synthetic pathways to tetrahydrocannabinol (THC): an overview. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 18, n. 17, p. 3203-3215, 2020.

BONNET, J. L. et al. Assessment of anthracene toxicity toward environmental eukaryotic microorganisms: *Tetrahymena pyriformis* and selected

micromycetes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, n. 1, p. 87-100, 2005.

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

BOOTH, J., BOHLMANN, J. Terpenes in Cannabis sativa—From plant genome to humans. **Plant Science**, v. 284, p. 67-72, 2019.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Anvisa aprova novo produto de cannabis a ser fabricado no Brasil*. 24 nov. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/anvisa-aprova-novo-produto-de-cannabis-a-ser-fabricado-no-brasil>. Acesso em: 11 fev. 2025.

BRIDGEMAN, M. & ABAZIA, D. Medicinal cannabis: history, pharmacology, and implications for the acute care setting. **Pharmacy and therapeutics**, v. 42, n. 3, p. 180, 2017.

BRIGHENTI, V. et al. Development of a new extraction technique and HPLC method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type Cannabis sativa L.(hemp). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 143, p. 228-236, 2017.

BROWN, K. et al. The modulatory effects and therapeutic potential of cannabidiol in the gut. **Cells**, v. 13, n. 19, p. 1618, 2024.

BRUIJNZEEL, A. et al. Behavioral characterization of the effects of cannabis smoke and anandamide in rats. **PloS one**, v. 11, n. 4, p. e0153327, 2016.

CÂMARA, J. et al. Plant-derived terpenoids: A plethora of bioactive compounds with several health functions and industrial applications—A comprehensive overview. **Molecules**, v. 29, n. 16, p. 3861, 2024.

CALAPAI, F. et al. Cannabinoids, blood-brain barrier, and brain disposition. **Pharmaceutics**, 12 (3), 265 [em linha]. 2020.

CARLINI, E. A. et al. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. **Journal of ethnopharmacology**, v. 17, n. 1, p. 37-64, 1986.

CARLINI, E. A. A história da maconha no Brasil. **Jornal brasileiro de psiquiatria**, v. 55, p. 314-317, 2006.

CASTILLO, P. E. et al. Endocannabinoid signaling and synaptic function. **Neuron**, v. 76, n. 1, p. 70-81, 2012.

- CASTILLO, A. et al. The neuroprotective effect of cannabidiol in an in vitro model of newborn hypoxic–ischemic brain damage in mice is mediated by CB2 and adenosine receptors. **Neurobiology of disease**, v. 37, n. 2, p. 434-440, 2010.
- CHAOUL, N. et al. Cannabidiol modulation of immune cell function: in vitro insights and therapeutic implications for atopic dermatitis. **Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii**, v. 41, n. 1, 2024.
- CHATZIMITAKOS, T. et al. In the swim of cannabis: developmental toxicity and metabolomic pathway alterations of zebrafish larvae exposed to THC for the assessment of its potential environmental and human health impact. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5506, 2022.
- CHEN, X., UNADKAT, J., MAO, Q. Tetrahydrocannabinol and its major metabolites are not (or are poor) substrates or inhibitors of human P-glycoprotein [ATP-binding cassette (ABC) B1] and breast cancer resistance protein (ABCG2). **Drug Metabolism and Disposition**, v. 49, n. 10, p. 910-918, 2021.
- CHRISTENSEN, C. et al. Decoding the postulated entourage effect of medicinal cannabis: What it is and what it isn't. **Biomedicines**, v. 11, n. 8, p. 2323, 2023.
- CITTI, C. et al. A novel phytocannabinoid isolated from *Cannabis sativa* L. with an in vivo cannabimimetic activity higher than Δ9-tetrahydrocannabinol: Δ9-Tetrahydrocannabiphorol. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 20335, 2019.
- CLARKE, R. & MERLIN, M. **Cannabis: evolution and ethnobotany**. Univ of California Press, 2016.
- CHEN, X., UNADKAT, J., MAO, Q. Tetrahydrocannabinol and its major metabolites are not (or are poor) substrates or inhibitors of human P-glycoprotein [ATP-binding cassette (ABC) B1] and breast cancer resistance protein (ABCG2). **Drug Metabolism and Disposition**, v. 49, n. 10, p. 910-918, 2021.
- COLAK, D., COSKUN YAZICI, Z., BOLKENT, S. Chronic administration of delta9-tetrahydrocannabinol protects hyperinsulinemic gastric tissue in rats. **Cell Biochemistry and Function**, v. 41, n. 8, p. 1543-1551, 2023.
- CRAFT, R., MARUSICH, J., WILEY, J. Sex differences in cannabinoid pharmacology: a reflection of differences in the endocannabinoid system? **Life sciences**, v. 92, n. 8-9, p. 476-481, 2013.
- COOPER, Z., CRAFT, R. Sex-dependent effects of cannabis and cannabinoids: a translational perspective. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 1, p. 34-51, 2018.

- COSTA, A. C. et al. Acute and prolonged toxicity assessment of Cannabis sativa extract in rodents and lagomorphs. **Toxicology Reports**, v. 14, p. 101918, 2025.
- CROCQ, M-A. History of cannabis and the endocannabinoid system. **Dialogues in clinical neuroscience**, v. 22, n. 3, p. 223-228, 2020.
- CRIDGE, B., ROSENGREN, R. Critical appraisal of the potential use of cannabinoids in cancer management. **Cancer management and research**, p. 301-313, 2013.
- CRISTINO, L., BISOGNO, T., DI MARZO, V. Cannabinoids and the expanded endocannabinoid system in neurological disorders. **Nature Reviews Neurology**, v. 16, n. 1, p. 9-29, 2020.
- CUNHA, J. M. et al. Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. **Pharmacology**, v. 21, n. 3, p. 175-185, 1980.
- DALTERIO, S.; BARTKE, A.; MAYFIELD, D. A novel female influences Δ9-THC effects on plasma hormone levels in male mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 15, n. 2, p. 281-284, 1981.
- DE ALMEIDA, D., DEVI, L. Diversity of molecular targets and signaling pathways for CBD. **Pharmacology research & perspectives**, v. 8, n. 6, p. e00682, 2020.
- DE AQUINO, D. DINIZ, M. Cannabis toxicological non clinical assays: a literature review. **Observatorio de la Economía Latinoamericana**, v. 23, n. 5, p. e10033-e10033, 2025.
- DECOFFE, D. et al. Dietary lipid type, rather than total number of calories, alters outcomes of enteric infection in mice. **The Journal of infectious diseases**, v. 213, n. 11, p. 1846-1856, 2016.
- DE PETROCELLIS, L. et al. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. **British journal of pharmacology**, v. 163, n. 7, p. 1479-1494, 2011.
- DE SOUZA, M., HENRIQUES, A., LIMBERGER, R. Medical cannabis regulation: an overview of models around the world with emphasis on the Brazilian scenario. **Journal of Cannabis Research**, v. 4, n. 1, p. 33, 2022.
- DEVANE, W. A. et al. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. **Molecular pharmacology**, v. 34, n. 5, p. 605-613, 1988.
- DEVINSKY, O. et al. Effect of cannabidiol on drop seizures in the Lennox–Gastaut syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 378, n. 20, p. 1888-1897, 2018.

DIAS, L., DOS SANTOS, S. Breve história da maconha no Brasil e suas relações com a moralidade na formação da República. **Revista Aedos**, v. 13, n. 28, p. 281-322, 2021.

DI GIACOMO, V. et al. Neuroprotective and neuromodulatory effects induced by cannabidiol and cannabigerol in rat hypo-E22 cells and isolated hypothalamus. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, p. 71, 2020.

DIPATRIZIO, N. V. Endocannabinoids in the Gut. **Cannabis and cannabinoid research**, v. 1, n. 1, p. 67-77, 2016.

DIPATRIZIO, N. V. Endocannabinoids and the gut-brain control of food intake and obesity. **Nutrients**, v. 13, n. 4, p. 1214, 2021.

DOOHAN, P. et al. Cannabinoid interactions with cytochrome P450 drug metabolism: a full-spectrum characterization. **The AAPS Journal**, n. 23. 4, p. 91, 2021.

EL-MERNISSI, R. et al. Cannabis sativa L. essential oil: Chemical composition, anti-oxidant, anti-microbial properties, and acute toxicity: In vitro, in vivo, and in silico study. **Open Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 20230214, 2024.

ENGLUND, A. et al. Cannabidiol inhibits THC-elicited paranoid symptoms and hippocampal-dependent memory impairment. **Journal of psychopharmacology**, v. 27, n. 1, p. 19-27, 2013.

EWING, L. et al. Hepatotoxicity of a cannabidiol-rich cannabis extract in the mouse model. **Molecules**, v. 24, n. 9, p. 1694, 2019.

FANTAUZZI, M. F. et al. Development and validation of a mouse model of contemporary cannabis smoke exposure. **ERJ Open Research**, v. 7, n. 3, 2021.

FARRELLY, A., VLACHOU, S., GRINTZALIS, K. Efficacy of phytocannabinoids in epilepsy treatment: novel approaches and recent advances. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 8, p. 3993, 2021.

FARRIMOND, J., WHALLEY, B., WILLIAMS, C. Cannabinol and cannabidiol exert opposing effects on rat feeding patterns. **Psychopharmacology**, v. 223, n. 1, p. 117-129, 2012.

FILEP, J. Leukocytes in inflammation, resolution of inflammation, autoimmune diseases and cancer. **Cells**, v. 10, n. 7, p. 1735, 2021.

FILIMONOV, D. A. et al. Computer-aided estimation of biological activity profiles of drug-like compounds taking into account their metabolism in human body. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 20, p. 7492, 2020.

- FILIMONOV, D. A. et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v. 50, n. 3, p. 444-457, 2014.
- FILIPIU, L. et al. Acute toxicity and pharmacokinetic profile of an EU-GMP-certified Cannabis sativa L. in Rodents. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 5, p. 694, 2023.
- FORNER-PIQUER, I. et al. Endocannabinoid system and metabolism: the influences of sex. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 22, p. 11909, 2024.
- FU, J. et al. Optimal fasting duration for mice as assessed by metabolic status. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 21509, 2024.
- GAONI, MECHOULAM. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. **Journal of the American chemical society**, v. 86, n. 8, p. 1646-1647, 1964.
- GARCÍA-AREN CIBIA, M. et al. Evaluation of the neuroprotective effect of cannabinoids in a rat model of Parkinson's disease: importance of antioxidant and cannabinoid receptor-independent properties. **Brain research**, v. 1134, p. 162-170, 2007.
- GERTSCH, J. et al. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. **PNAS**, v. 105, n. 26, p. 9099-9104, 2008.
- GHOSAL, S. et al. Mouse handling limits the impact of stress on metabolic endpoints. **Physiology & behavior**, v. 150, p. 31-37, 2015.
- GINGRICH, J. et al. Review of the oral toxicity of cannabidiol (CBD). **Food and Chemical Toxicology**, v. 176, p. 113799, 2023.
- GO, R. et al. Effects of microalgal polyunsaturated fatty acid oil on body weight and lipid accumulation in the liver of C57BL/6 mice fed a high fat diet. **Journal of Biomedical Research**, v. 30, n. 3, p. 234, 2016.
- GOKULAN, K. et al. Differential toxicological outcome of corn oil exposure in rats and mice as assessed by microbial composition, epithelial permeability, and ileal mucosa-associated immune status. **Toxicological Sciences**, v. 180, n. 1, p. 89-102, 2021.
- GÓMEZ, C. et al. Cannabidiol (CBD) alters the functionality of neutrophils (PMN). Implications in the refractory epilepsy treatment. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 3, p. 220, 2021.
- GOVAERTS, S., HERMANS, E., LAMBERT, D. Comparison of cannabinoid ligands affinities and efficacies in murine tissues and in transfected cells expressing human

- recombinant cannabinoid receptors. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 23, n. 3, p. 233-243, 2004.
- GROTHENHERMEN, F., RUSSO, E. Cannabis and cannabinoids: pharmacology, toxicology, and therapeutic potential. **Psychology Press**, 2002.
- GROTHENHERMEN, F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. **Clinical pharmacokinetics**, v. 42, n. 4, p. 327-360, 2003.
- GUERRA, L. et al. Do mineral and corn oil serve as potential endocrine disruptors in the gerbil prostate? **Reproductive Toxicology**, v. 90, p. 141-149, 2019.
- GÜLCK, T. & MØLLER, B. Phytocannabinoids: origins and biosynthesis. **Trends in plant science**, v. 25, n. 10, p. 985-1004, 2020.
- GUPTA, P. et al. A Critical Review on Computational Techniques through in silico Assisted Drug Design. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 14, n. 4, 2024.
- HAIDAR, Z. et al. Differential inflammatory profile in the lungs of mice exposed to cannabis smoke with varying THC: CBD ratio. **Archives of Toxicology**, v. 97, n. 7, p. 1963-1978, 2023.
- HAMPSON, A. J. et al. Cannabidiol and (-) Δ9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 14, p. 8268-8273, 1998.
- HASSENBERG, C. et al. Investigation of phase II metabolism of 11-hydroxy-Δ-9-tetrahydrocannabinol and metabolite verification by chemical synthesis of 11-hydroxy-Δ-9-tetrahydrocannabinol-glucuronide. **International Journal of Legal Medicine**, v. 134, n. 6, p. 2105-2119, 2020.
- HEMMERICH, J. ECKER, G. In silico toxicology: From structure–activity relationships towards deep learning and adverse outcome pathways. **Wiley interdisciplinary reviews: computational molecular science**, v. 10, n. 4, p. e1475, 2020.
- HENDERSON, R. et al. Oral toxicity evaluation of cannabidiol. **Food and Chemical Toxicology**, v. 176, p. 113778, 2023.
- HOW, Z. T., EL-DIN, M. A critical review on the detection, occurrence, fate, toxicity, and removal of cannabinoids in the water system and the environment. **Environmental Pollution**, v. 268, p. 115642, 2021.
- HOWLETT, A. C. et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. **Pharmacological reviews**, v. 54, n. 2, p. 161-202, 2002.

HUANG, W., CHEN, W., ZHANG, X. Endocannabinoid system: Role in depression, reward and pain control. **Molecular medicine reports**, v. 14, n. 4, p. 2899-2903, 2016.

HUBBARD, J., CHEN, P., BOYD, K. Effects of repeated intraperitoneal injection of pharmaceutical-grade and nonpharmaceutical-grade corn oil in female C57BL/6J mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 56, n. 6, p. 779-785, 2017.

HUESTIS, M. et al. Cannabidiol adverse effects and toxicity. **Current neuropharmacology**, v. 17, n. 10, p. 974-989, 2019.

HUESTIS, M. Human cannabinoid pharmacokinetics. **Chemistry & biodiversity**, v. 4, n. 8, p. 1770, 2007.

HUSSEIN, J. Principles and Applications of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A Review. **Biomedical and Pharmacology Journal**, v. 18, n. 2, p. 1085-1089, 2025.

IGNATOWSKA-JANKOWSKA, B. et al. Cannabidiol-induced lymphopenia does not involve NKT and NK cells. **J Physiol Pharmacol**, v. 60, n. Suppl 3, p. 99-103, 2009.

ISILDAR, B. et al. Effects of Δ -9 tetrahydrocannabinol on the small intestine altered by high fructose diet: A Histopathological study. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 162, n. 5, p. 363-372, 2024.

JIANG, R. et al. Identification of cytochrome P450 enzymes responsible for metabolism of cannabidiol by human liver microsomes. **Life sciences**, v. 89, n. 5-6, p. 165-170, 2011.

JIN, D. et al. Secondary metabolites profiled in cannabis inflorescences, leaves, stem barks, and roots for medicinal purposes. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 3309, 2020.

JONES, N. et al. Cannabidiol displays antiepileptiform and antiseizure properties in vitro and in vivo. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 332, n. 2, p. 569-577, 2010.

JOSHI, M., JOSHI, A. BARTTER, T. Marijuana and the lung: evolving understandings. **Medical Clinics**, v. 106, n. 6, p. 1093-1107, 2022.

KAMINSKI, N. et al. Identification of a functionally relevant cannabinoid receptor on mouse spleen cells that is involved in cannabinoid-mediated immune modulation. **Molecular pharmacology**, v. 42, n. 5, p. 736-742, 1992.

- KANO, M. et al. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. **Physiological reviews**, 2009.
- KARKI, P., RANGASWAMY, M. A review of historical context and current research on cannabis use in India. **Indian Journal of Psychological Medicine**, v. 45, n. 2, p. 105-116, 2023.
- KARMAUS, P. et al. Deletion of cannabinoid receptors 1 and 2 exacerbates APC function to increase inflammation and cellular immunity during influenza infection. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 90, n. 5, p. 983-995, 2011.
- KATZUNG, B., VANDERAH, T. **Farmacologia básica e clínica**. Artmed Editora, 2022.
- KAVIA, R. et al. Randomized controlled trial of Sativex to treat detrusor overactivity in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis Journal**, v. 16, n. 11, p. 1349-1359, 2010.
- KICMAN, A., TOCZEK, M. The effects of cannabidiol, a non-intoxicating compound of cannabis, on the cardiovascular system in health and disease. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 18, p. 6740, 2020.
- KINSEY, S., COLE, E. Acute $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol blocks gastric hemorrhages induced by the nonsteroidal anti-inflammatory drug diclofenac sodium in mice. **European journal of pharmacology**, v. 715, n. 1-3, p. 111-116, 2013.
- KHOJ, L. et al. Effects of cannabis smoking on the respiratory system: A state-of-the-art review. **Respiratory Medicine**, v. 221, p. 107494, 2024.
- KISS, N., HAMAR, P. Histopathological evaluation of contrast-induced acute kidney injury rodent models. **BioMed research international**, v. 2016, n. 1, p. 3763250, 2016.
- KRUK-SLOMKA, M. et al. Effects of fatty acid amide hydrolase inhibitors acute administration on the positive and cognitive symptoms of schizophrenia in mice. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 11, p. 7251-7266, 2019.
- KRZYŻEWSKA, A. et al. Cannabidiol improves antioxidant capacity and reduces inflammation in the lungs of rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. **Molecules**, v. 27, n. 10, p. 3327, 2022.
- LALLÈS, J. Recent advances in intestinal alkaline phosphatase, inflammation, and nutrition. **Nutrition reviews**, v. 77, n. 10, p. 710-724, 2019.
- LANDSCHAFT, Y. et al. Medical grade cannabisclinical guide. **Jerusalem, Israel: IMCA-Israeli Medical Cannabis Agency, Ministry of Health**, 2017.

- LANE, T. et al. Comparing LD50/LC50 machine learning models for multiple species. **ACS Chemical Health & Safety**, v. 30, n. 2, p. 83-97, 2023.
- LAPRAIRIE, R. et al. Biased type 1 cannabinoid receptor signaling influences neuronal viability in a cell culture model of Huntington disease. **Molecular Pharmacology**, v. 89, n. 3, p. 364-375, 2016.
- LAPRAIRIE, R. et al. Cannabidiol is a negative allosteric modulator of the cannabinoid CB1 receptor. **British journal of pharmacology**, v. 172, n. 20, p. 4790-4805, 2015.
- LAVIGNE, J. et al. Cannabis sativa terpenes are cannabimimetic and selectively enhance cannabinoid activity. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 8232, 2021.
- LEE, Y., LEE, C., JUN, H. Infrequent feeding of restricted amounts of food induces stress and adipose tissue inflammation, contributing to impaired glucose metabolism. **International Journal of Medical Sciences**, v. 15, n. 14, p. 1667, 2018.
- LEWIS, M., RUSSO, E., SMITH, K. Pharmacological foundations of cannabis chemovars. **Planta medica**, v. 84, n. 04, p. 225-233, 2018.
- LEWIS, S., WILLIAMS, A., EISENBARTH, S. Structure and function of the immune system in the spleen. **Science immunology**, v. 4, n. 33, p. eaau6085, 2019.
- LI, H. An archaeological and historical account of cannabis in China. **Economic botany**, v. 28, n. 4, p. 437-448, 1974.
- LIAN, J., CASARI, I., FALASCA, M. Modulatory role of the endocannabinoidome in the pathophysiology of the gastrointestinal tract. **Pharmacological Research**, v. 175, p. 106025, 2022.
- LICITRA, R. et al. In vivo evaluation of Cannabis sativa full extract on zebrafish larvae development, locomotion behavior and gene expression. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 12, p. 1224, 2021.
- LINDBLOM, E. How FDA could use its existing authorities to make state legalization of cannabis more safe and effective. **Food & Drug LJ**, v. 74, p. 191, 2019.
- LO, L. A. et al. Does acute cannabidiol (CBD) use impair performance? A meta-analysis and comparison with placebo and delta-9-tetrahydrocannabinol (THC). **Neuropsychopharmacology**, v. 49, n. 9, p. 1425-1436, 2024.
- LOUIS-GRAY, K., TUPAL, S., PREMKUMAR, L. TRPV1: a common denominator mediating antinociceptive and antiemetic effects of cannabinoids. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 17, p. 10016, 2022.

- LOWE, H. et al. Non-cannabinoid metabolites of Cannabis sativa L. with therapeutic potential. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 400, 2021.
- LOWE, H. et al. The endocannabinoid system: a potential target for the treatment of various diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 17, p. 9472, 2021.
- LU, H., MACKIE, K. Review of the endocannabinoid system. **Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging**, v. 6, n. 6, p. 607-615, 2021.
- LUCAS, C., GALETTIS, P., SCHNEIDER, J. The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. **British journal of clinical pharmacology**, v. 84, n. 11, p. 2477-2482, 2018.
- LUO, X. et al. Complete biosynthesis of cannabinoids and their unnatural analogues in yeast. **Nature**, v. 567, n. 7746, p. 123-126, 2019.
- MAA, E. & FIGI, P. The case for medical marijuana in epilepsy. **Epilepsia**, v. 55, n. 6, p. 783-786, 2014.
- MACCALLUM, C., RUSSO, E. Practical considerations in medical cannabis administration and dosing. **European journal of internal medicine**, v. 49, p. 12-19, 2018.
- MCLAUGHLIN, R. Toward a translationally relevant preclinical model of cannabis use. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 1, p. 213, 2017.
- MACNAIR, L. et al. Sex differences in the pharmacokinetics of cannabidiol and metabolites following oral administration of a cannabidiol-dominant cannabis oil in healthy adults. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 9, n. 4, p. e1170-e1178, 2024.
- MATHESON, J., BOURGAULT, Z., LE FOLL, B. Sex differences in the neuropsychiatric effects and pharmacokinetics of cannabidiol: A scoping review. **Biomolecules**, v. 12, n. 10, p. 1462, 2022.
- MARTINI, S. et al. Effects of cannabidiol on innate immunity: experimental evidence and clinical relevance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 3125, 2023.
- MARSICANO, G. et al. CB1 cannabinoid receptors and on-demand defense against excitotoxicity. **Science**, v. 302, n. 5642, p. 84-88, 2003.
- MCDONAGH, M. et al. Cannabis-based products for chronic pain: a systematic review. **Annals of internal medicine**, v. 175, n. 8, p. 1143-1153, 2022.

- MCPARTLAND, J. Cannabis systematics at the levels of family, genus, and species. **Cannabis and cannabinoid research**, v. 3, n. 1, p. 203-212, 2018.
- MCPARTLAND, J., GLASS, M. Functional mapping of cannabinoid receptor homologs in mammals, other vertebrates, and invertebrates. **Gene**, v. 312, p. 297-303, 2003.
- MCPARTLAND, J., HEGMAN, 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**, v. 28, n. 6, p. 691-702, 2019.
- MEEPUN, N., SOMMART, U., BUALUANG, O. Green solvent-based extraction of Cannabis sativa L. by-products: enhancing antioxidant potential and cannabinoid enrichment using MCT oil. **Journal of Cannabis Research**, v. 7, n. 1, p. 50, 2025.
- MILLAR, S. et al. A systematic review on the pharmacokinetics of cannabidiol in humans. **Frontiers in pharmacology**, v. 9, p. 425858, 2018.
- MILLER, H., BONAWITZ, S., OSTROVSKY, O. The effects of delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) on inflammation: A review. **Cellular Immunology**, v. 352, p. 104111, 2020.
- MILIN, Č. et al. Effect of olive oil-and corn oil-enriched diets on the tissue mineral content in mice. **Biological trace element research**, v. 82, n. 1, p. 201-210, 2001.
- MOHAMMED, A. et al. Administration of Δ9-tetrahydrocannabinol (THC) post-staphylococcal enterotoxin B exposure protects mice from acute respiratory distress syndrome and toxicity. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 893, 2020.
- MORRIS, G. et al. The endocannabinoidome in neuropsychiatry: Opportunities and potential risks. **Pharmacological Research**, v. 170, p. 105729, 2021.
- MUNRO, S., THOMAS, K., ABU-SHAAR, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature**, v. 365, n. 6441, p. 61-65, 1993.
- NACHNANI, R., RAUP-KONSAVAGE, W., VRANA, K. The pharmacological case for cannabigerol. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 376, n. 2, p. 204-212, 2021.
- NAGARKATTI, P. et al. Cannabinoids as novel anti-inflammatory drugs. **Future medicinal chemistry**, v. 1, n. 7, p. 1333-1349, 2009.
- NASRIN, S. et al. Cannabinoid metabolites as inhibitors of major hepatic CYP450 enzymes, with implications for cannabis-drug interactions. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 49, n. 12, p. 1070-1080, 2021.

- NAVARRETE, F. et al. Cannabinoid CB1 and CB2 receptors, and monoacylglycerol lipase gene expression alterations in the basal ganglia of patients with Parkinson's disease. **Neurotherapeutics**, v. 15, n. 2, p. 459-469, 2018.
- NAYA, N. et al. An overview of cannabidiol as a multifunctional drug: pharmacokinetics and cellular effects. **Molecules**, v. 29, n. 2, p. 473, 2024.
- ODDI, S., SCIPIONI, L., MACCARRONE, M. Endocannabinoid system and adult neurogenesis: a focused review. **Current opinion in pharmacology**, v. 50, p. 25-32, 2020.
- OECD, Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, Section 4, OECD Publishing, Paris. 2001.
- OGIDIGO, J. et al. In silico molecular docking and pharmacokinetic studies of some selected phyto-constituents of *Byrophyllum pinnatum* as a potential selective inhibitor of MAO-B. **Pharmacologyonline**, v. 3, n. 45, p. 14-49, 2018.
- O'SULLIVAN, S. An update on PPAR activation by cannabinoids. **British journal of pharmacology**, v. 173, n. 12, p. 1899-1910, 2016.
- OZA, M. et al. Acute and short-term administrations of delta-9-tetrahydrocannabinol modulate major gut metabolomic regulatory pathways in C57BL/6 mice. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 10520, 2019.
- PADUCH, R. et al. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 55, n. 5, p. 315-327, 2007.
- PAGE, S. & VERHOFF, M. Medicinal marijuana use. **Can Fam Physician**, 52(1): 65, 2006.
- PAMPLONA, F., DA SILVA, L., COAN, A. Potential clinical benefits of CBD-rich cannabis extracts over purified CBD in treatment-resistant epilepsy: observational data meta-analysis. **Frontiers in neurology**, v. 9, p. 392084, 2018.
- PANDEY, R. et al. Targeting cannabinoid receptors as a novel approach in the treatment of graft-versus-host disease: evidence from an experimental murine model. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 338, n. 3, p. 819-828, 2011.
- PARTHASARATHI, R., DHAWAN, A. In silico approaches for predictive toxicology. In: **In vitro toxicology**. Academic Press. p. 91-109. 2018.
- PARASURAMAN, S. Toxicological screening. **Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics**, v. 2, n. 2, p. 74, 2011.

PENG, J. et al. A narrative review of molecular mechanism and therapeutic effect of cannabidiol (CBD). **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 130, n. 4, p. 439-456, 2022.

PERTWEE, R. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ9-tetrahydrocannabivarin. **British journal of pharmacology**, v. 153, n. 2, p. 199-215, 2008.

PETRUSSA, E. et al. Plant flavonoids—biosynthesis, transport and involvement in stress responses. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 7, p. 14950-14973, 2013.

PHILLIPS, R., TURK, R., FORNEY, R. Acute toxicology of delta"-THC in rats and mice. **Proceedings of the Society for Experimental Biology**, 1971, 136, 260, v. 263, 1971.

PINTO, J., MARTEL, F. Effects of cannabidiol on appetite and body weight: a systematic review. **Clinical drug investigation**, v. 42, n. 11, p. 909-919, 2022.

PLASSE, T. et al. Recent clinical experience with dronabinol. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 40, n. 3, p. 695-700, 1991.

PISANTI, S., BIFULCO, M. Medical Cannabis: A plurimillennial history of an evergreen. **Journal of cellular physiology**, v. 234, n. 6, p. 8342-8351, 2019.

PRASHAD, S. FILBEY, F. Cognitive motor deficits in cannabis users. **Current opinion in behavioral sciences**, v. 13, p. 1-7, 2017.

PRETEROTI, M. et al. Modulation of pulmonary immune function by inhaled cannabis products and consequences for lung disease. **Respiratory Research**, v. 24, n. 1, p. 95, 2023.

PRIOR, H., et al. Reviewing the utility of two species in general toxicology related to drug development. **International Journal of Toxicology**, v. 37, n. 2, p. 121-124, 2018.

PUENTE, N. et al. Polymodal activation of the endocannabinoid system in the extended amygdala. **Nature neuroscience**, v. 14, n. 12, p. 1542-1547, 2011.

RADWAN, M. et al. Cannabinoids, phenolics, terpenes and alkaloids of cannabis. **Molecules**, v. 26, n. 9, p. 2774, 2021.

RAHN, E. & HOHMANN, A. Cannabinoids as pharmacotherapies for neuropathic pain: from the bench to the bedside. **Neurotherapeutics**, v. 6, n. 4, p. 713-737, 2009.

- RATHGE, A. *Cannabis Cures: American Medicine, Mexican Marijuana, and the Origins of the War on Weed, 1840-1937*. **Boston College**, 2017.
- RAZ, N. et al. Selected cannabis terpenes synergize with THC to produce increased CB1 receptor activation. **Biochemical Pharmacology**, v. 212, p. 115548, 2023.
- REA, K. et al. Biosynthesis of cannflavins A and B from *Cannabis sativa* L. **Phytochemistry**, v. 164, p. 162-171, 2019.
- REDDY, V. et al. Targeting the endocannabinoid system: a predictive, preventive, and personalized medicine-directed approach to the management of brain pathologies. **EPMA Journal**, v. 11, n. 2, p. 217-250, 2020.
- REISDORPH, N et al. Oral Cannabis consumption and intraperitoneal THC: CBD dosing results in changes in brain and plasma neurochemicals and endocannabinoids in mice. **Journal of Cannabis Research**, v. 6, n. 1, p. 10, 2024.
- RIBEIRO, A. et al. Cannabidiol improves lung function and inflammation in mice submitted to LPS-induced acute lung injury. **Immunopharmacology and immunotoxicology**, v. 37, n. 1, p. 35-41, 2015.
- ROGERIO, A. et al. Preventive and therapeutic anti-inflammatory properties of the sesquiterpene α -humulene in experimental airways allergic inflammation. **British journal of pharmacology**, v. 158, n. 4, p. 1074-1087, 2009.
- RUBERTE, J. et al. Bridging mouse and human anatomies; a knowledge-based approach to comparative anatomy for disease model phenotyping. **Mammalian Genome**, v. 34, n. 3, p. 389-407, 2023.
- RUSSO, E. Cannabis in India: ancient lore and modern medicine. In: **Cannabinoids as therapeutics**. Basel: Birkhäuser Basel, p. 1-22, 2005.
- RUSSO, E. History of cannabis as medicine: Nineteenth century Irish physicians and correlations of their observations to modern research. In: **Cannabis sativa L.-Botany and Biotechnology**. Cham: Springer International Publishing, p. 63-78. 2017.
- RUSSO, E. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. **British journal of pharmacology**, v. 163, n. 7, p. 1344-1364, 2011.
- RUSSO, E. The case for the entourage effect and conventional breeding of clinical cannabis: no “strain,” no gain. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 434025, 2019.
- RUSSO, E., MCPARTLAND, J. Cannabis is more than simply $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol. **Psychopharmacology**, v. 165, n. 4, p. 431-432, 2003.

- RUSSO, E. & GUY, G. A tale of two cannabinoids: the therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. **Medical hypotheses**, v. 66, n. 2, p. 234-246, 2006.
- RYBERG, E. et al. The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. **British journal of pharmacology**, v. 152, n. 7, p. 1092-1101, 2007.
- SALEEM, M. Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. **Cancer letters**, v. 285, n. 2, p. 109-115, 2009.
- SCHWARZ, A. et al. Terpenes from Cannabis sativa Induce Antinociception in Mouse Chronic Neuropathic Pain via Activation of Spinal Cord Adenosine A2A Receptors. **bioRxiv**, 2023.
- SELTZER, E., et al. Cannabidiol (CBD) as a promising anti-cancer drug. **Cancers**, v. 12, n. 11, p. 3203, 2020.
- SHAHEN-ZOABI, S. et al. N-oleoyl glycine and N-oleoyl alanine attenuate alcohol self-administration and preference in mice. **Translational Psychiatry**, v. 13, n. 1, p. 273, 2023.
- SIMPSON, E. & DAVIS, S. Minireview: aromatase and the regulation of estrogen biosynthesis—some new perspectives. **Endocrinology**, v. 142, n. 11, p. 4589-4594, 2001.
- SMALL, E. Classification of Cannabis sativa L. in relation to agricultural, biotechnological, medical and recreational utilization. In: **Cannabis sativa L.-Botany and biotechnology**. Cham: Springer International Publishing. p. 1-62. 2017.
- STANLEY, C., HIND, W., O'SULLIVAN, S. Is the cardiovascular system a therapeutic target for cannabidiol? **British journal of clinical pharmacology**, v. 75, n. 2, p. 313-322, 2013.
- STRAIKER, A. et al. Cannabidiol inhibits endocannabinoid signaling in autaptic hippocampal neurons. **Molecular pharmacology**, v. 94, n. 1, p. 743-748, 2018.
- SOMMANO, S. et al. The cannabis terpenes. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5792, 2020.
- SONI, N. K. et al. Splenic immune response is down-regulated in C57BL/6J mice fed eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid enriched high fat diet. **Nutrients**, v. 9, n. 1, p. 50, 2017.
- SURYAVANSI, S. et al. Cannabinoids alleviate the LPS-induced cytokine storm via attenuating NLRP3 inflammasome signaling and TYK2-mediated STAT3 signaling pathways in vitro. **Cells**, v. 11, n. 9, p. 1391, 2022.

- SWENSON, K. Beyond the hype: a comprehensive exploration of CBD's biological impacts and mechanisms of action. **Journal of Cannabis Research**, v. 7, n. 1, p. 24, 2025.
- TALLON, M., CHILD, R. Subchronic oral toxicity assessment of a cannabis extract. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 144, p. 105496, 2023.
- TAKEDA, S., YAMAMOTO, I., WATANABE, K. Modulation of $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol-induced MCF-7 breast cancer cell growth by cyclooxygenase and aromatase. **Toxicology**, v. 259, n. 1-2, p. 25-32, 2009.
- TARIQ, H. et al. Flavonoid production: current trends in plant metabolic engineering and de novo microbial production. **Metabolites**, v. 13, n. 1, p. 124, 2023.
- TAURA, F. et al. Cannabidiolic-acid synthase, the chemotype-determining enzyme in the fiber-type Cannabis sativa. **FEBS letters**, v. 581, n. 16, p. 2929-2934, 2007.
- TAYLOR, A. et al. Chronic exposure to inhaled vaporized cannabis high in $\Delta 9$ -THC alters brain structure in adult female mice. **Frontiers in Neuroscience**, v. 17, p. 1139309, 2023.
- TEN-BLANCO, M. et al. Amygdalar CB2 cannabinoid receptor mediates fear extinction deficits promoted by orexin-A/hypocretin-1. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 149, p. 112925, 2022.
- THAPA, D., GHIMIRE, A., WARNE L. et al. Targeting the Endocannabinoidome: A Novel Approach to Managing Extraintestinal Complications in Inflammatory Bowel Disease. **Pharmaceuticals**, v. 18, n. 4, p. 478, 2025.
- THAPA, D. et al. Enhancing Tetrahydrocannabinol's Therapeutic Efficacy in Inflammatory Bowel Disease: The Roles of Cannabidiol and the Cannabinoid 1 Receptor Allosteric Modulator ZCZ011. **Pharmaceuticals**, v. 18, n. 2, p. 148, 2025.
- THIMMAPPA, R. et al. Triterpene biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, p. 225-257, 2014.
- THOMAS, B., ELSOHLY, M. Biosynthesis and pharmacology of phytocannabinoids and related chemical constituents. **The Analytical Chemistry of Cannabis**; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, p. 27-41, 2016.
- THOMAS, B., ELSOHLY, M. **The analytical chemistry of cannabis: Quality assessment, assurance, and regulation of medicinal marijuana and cannabinoid preparations**. Elsevier, 2015.

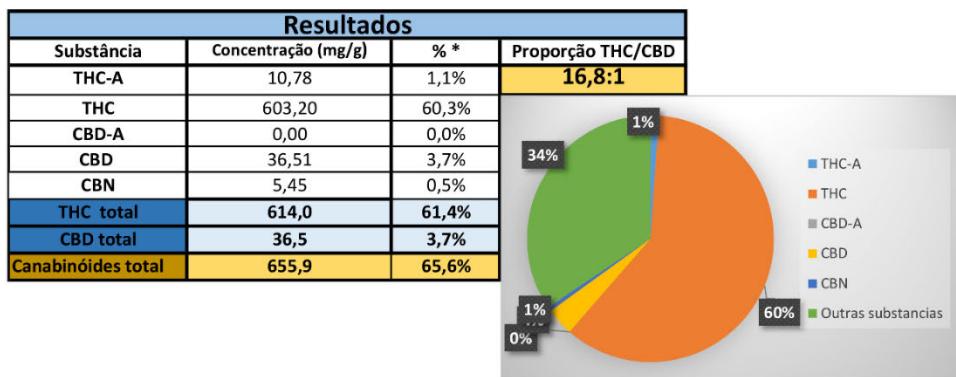
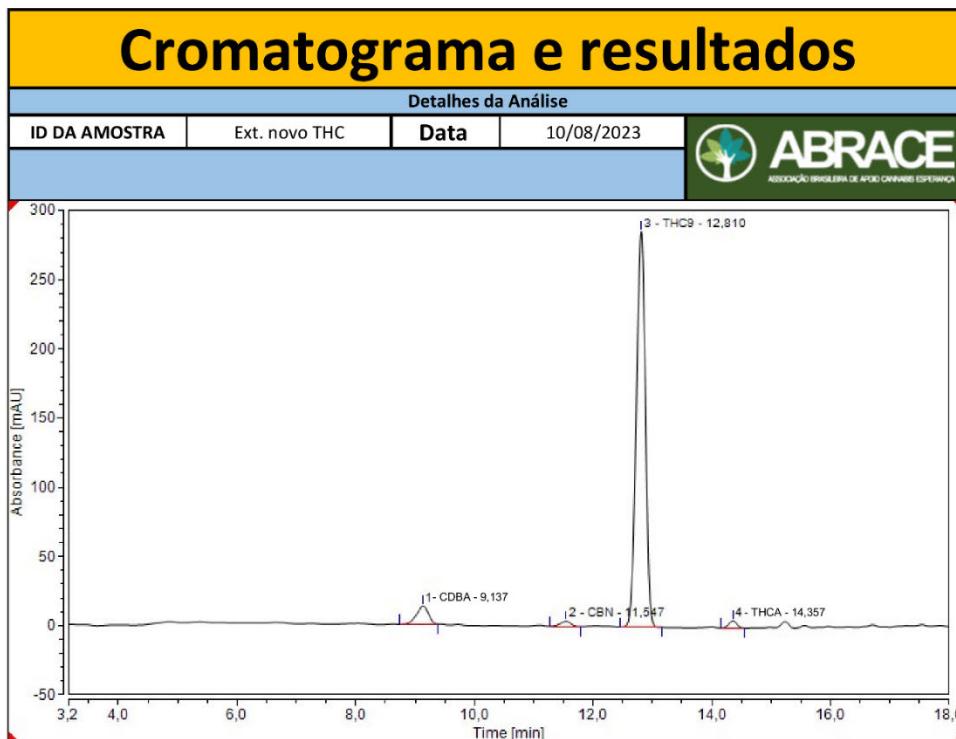
- THOMPSON, G. et al. Comparison of acute oral toxicity of cannabinoids in rats, dogs and monkeys. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 25, n. 3, p. 363-372, 1973.
- TORRENS, A. et al. Comparative pharmacokinetics of Δ9-tetrahydrocannabinol in adolescent and adult male and female rats. **Cannabis and cannabinoid research**, v. 7, n. 6, p. 814-826, 2022.
- TROVATO, A.; NUHLICEK, D. N.; MIDTLING, J. E. Drug-nutrient interactions. **American Family Physician**, v. 44, n. 5, p. 1651-1658, 1991.
- URBI, B. et al. Effects of cannabinoids in Parkinson's disease animal models: a systematic review and meta-analysis. **BMJ Open Science**, v. 6, n. 1, p. e100302, 2022.
- UJVÁRY, I & HANUŠ, L. Human metabolites of cannabidiol: a review on their formation, biological activity, and relevance in therapy. **Cannabis and cannabinoid research**, v. 1, n. 1, p. 90-101, 2016.
- VAN SICKLE, M. D. et al. Δ9-Tetrahydrocannabinol selectively acts on CB1 receptors in specific regions of dorsal vagal complex to inhibit emesis in ferrets. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 285, n. 3, p. G566-G576, 2003.
- VARVEL, S., LICHTMAN, A. Evaluation of CB1 receptor knockout mice in the Morris water maze. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 301, n. 3, p. 915-924, 2002.
- VOGEL, E. **Hemp (Cannabis sativa) for medicinal purposes: Cultivation under German growing conditions**. 2017. Tese de Doutorado. PhD thesis). Universität Hohenheim, Hohenheim.
- VUČKOVIĆ, S. et al. Cannabinoids and pain: new insights from old molecules. **Frontiers in pharmacology**, v. 9, p. 416167, 2018.
- WAGNER, E. J. Sex differences in cannabinoid-regulated biology: A focus on energy homeostasis. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 40, p. 101-109, 2016.
- WAGNER, H., ULRICH-MERZENICH G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. **Phytomedicine**. v. 16(2-3): p. 97-110. 2009
- WAKLEY, A., WILEY, J., CRAFT, R. Sex differences in antinociceptive tolerance to delta-9-tetrahydrocannabinol in the rat. **Drug and alcohol dependence**, v. 143, p. 22-28, 2014.

- WARD, T. et al. Regular cannabis use alters the neural dynamics serving complex motor control. **Human Brain Mapping**, v. 44, n. 18, p. 6511-6522, 2023.
- WEI, J. et al. Biosynthesis and the transcriptional regulation of terpenoids in tea plants (*Camellia sinensis*). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 8, p. 6937, 2023.
- WILEY, J., BURSTON, J. Sex differences in $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol metabolism and in vivo pharmacology following acute and repeated dosing in adolescent rats. **Neuroscience letters**, v. 576, p. 51-55, 2014.
- WILLIAMS, S., HARTLEY, J., GRAHAM, J. Bronchodilator effect of delta1-tetrahydrocannabinol administered by aerosol of asthmatic patients. **Thorax**, v. 31, n. 6, p. 720-723, 1976.
- WILSON, E. et al. The AhR is a Critical Regulator of the Pulmonary Response to Cannabis Smoke. **bioRxiv**, p. 2025.06. 24.660596, 2025.
- WOLIŃSKA, R. et al. Anti-Inflammatory Activity of Cannabis sativa L. Extract in 2, 4-Dinitrochlorobenzene-Induced Dermatitis in Rats. **Pharmaceuticals**, v. 18, n. 3, p. 370, 2025.
- YADAV, S. et al. An overview of phytochemical constituents and pharmacological implications of Cannabis sativa L. **Journal of Herbal Medicine**, v. 42, p. 100798, 2023.
- YANES, J. et al. Effects of cannabinoid administration for pain: A meta-analysis and meta-regression. **Experimental and clinical psychopharmacology**, v. 27, n. 4, p. 370, 2019.
- YANG, H. et al. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. **Bioinformatics**, v. 35, n. 6, p. 1067-1069, 2019.
- YASSA, H. et al. Subchronic toxicity of cannabis leaves on male albino rats. **Human & experimental toxicology**, v. 29, n. 1, p. 37-47, 2010.
- YEUNG, C. et al. Verifying in vitro-determined enzyme contributions to cannabidiol clearance for exposure predictions in human through physiologically-based pharmacokinetic modeling. **CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology**, v. 12, n. 3, p. 320-332, 2023.
- YU, K. et al. The complexities of proanthocyanidin biosynthesis and its regulation in plants. **Plant Communications**, v. 4, n. 2, 2023.

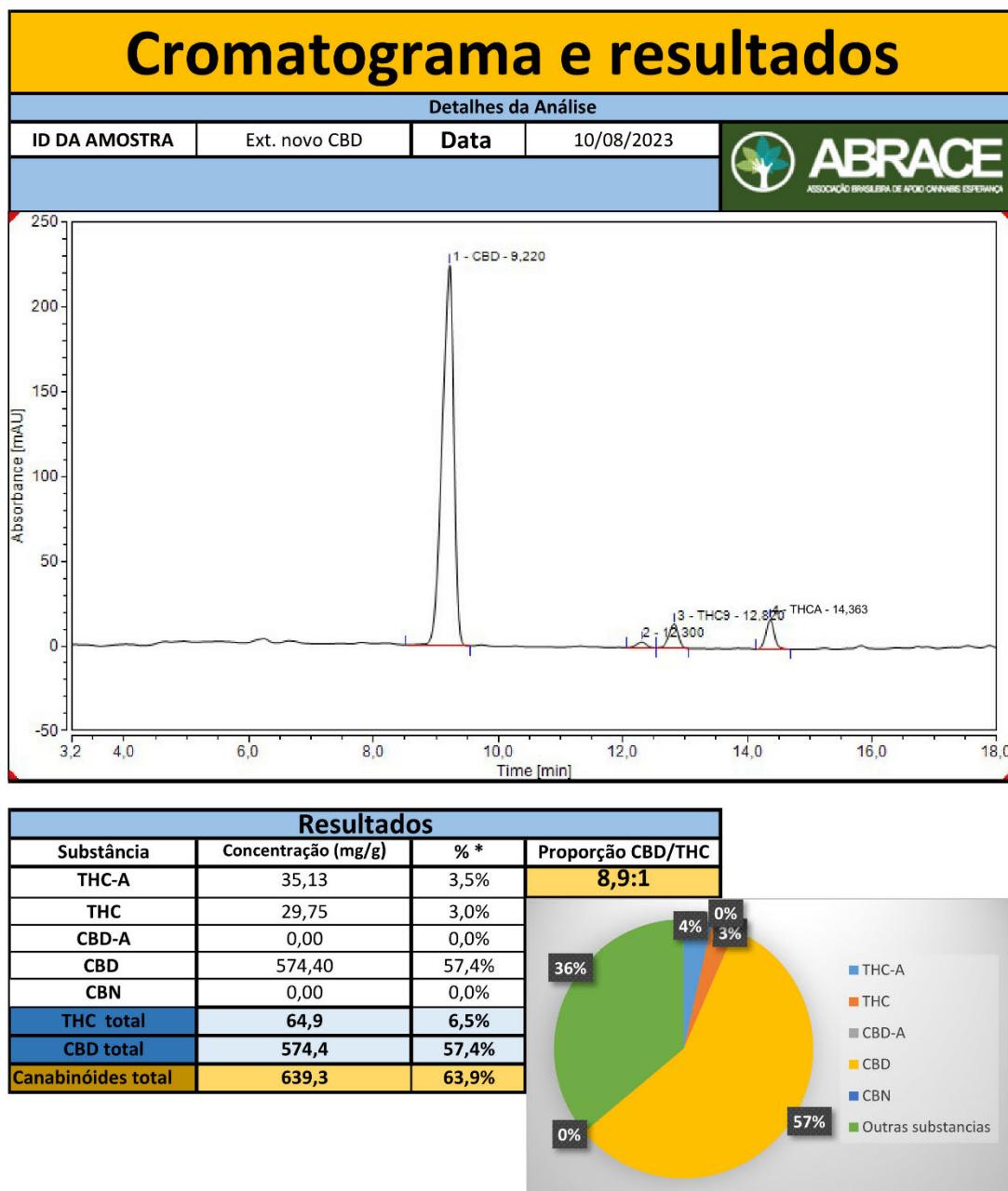
- ZAGZOOG, A. et al. The Intoxication Equivalency of 11-Hydroxy- Δ 9-Tetrahydrocannabinol Relative to Δ 9-Tetrahydrocannabinol. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 391, n. 2, p. 194-205, 2024.
- ZENDULKA, O. et al. Cannabinoids and cytochrome P450 interactions. **Current drug metabolism**, v. 17, n. 3, p. 206-226, 2016.
- ZOU, S., KUMAR, U. Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: signaling and function in the central nervous system. **International Journal of molecular sciences**, v. 19, n. 3, p. 833, 2018.
- ZUARDI, A. History of cannabis as a medicine: a review. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 28, p. 153-157, 2006.

ANEXOS

ANEXO A- Cromatograma do extrato de *Cannabis* rico em Δ 9-THC

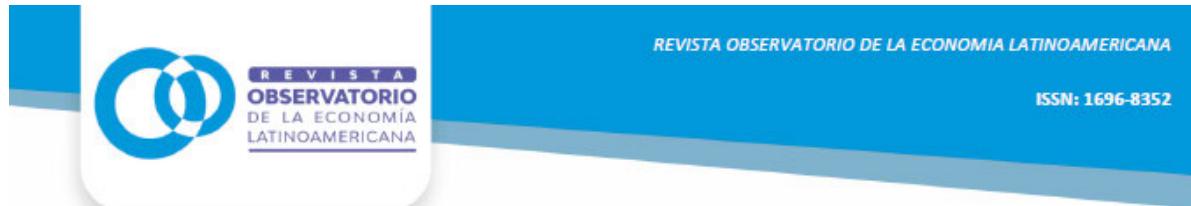


Kaio Aragão Sales
Kaio Aragão Sales
Farmacêutico - Controle de Qualidade - CRF-PB 03770

ANEXO B- Cromatograma do extrato de *Cannabis* rico em CBD


Kaio Aragão Sales

Farmacêutico - Controle de Qualidade - CRF-PB 03770

ANEXO C- Artigo publicado em revista Qualis A4***Cannabis toxicological non clinical assays: a literature review*****Ensaio toxicológico não clínico de *Cannabis*: uma revisão da literatura****Ensayos toxicológicos no clínicos del *Cannabis*: una revisión de la literatura**

DOI: 10.55905/oelv23n5-138

Receipt of originals: 4/25/2025

Acceptance for publication: 5/15/2025

Débora Nascimento de Aquino

Master of Science

Institution: Universidade Federal da Paraíba

Address: João Pessoa, Paraíba, Brazil

E-mail: debora21aquino@gmail.com

Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz

Post-Doctorate in Health Sciences

Institution: Universidade Federal da Paraíba

Address: João Pessoa, Paraíba, Brazil

E-mail: margaretdiniz.ufpb@gmail.com

ANEXO D- Artigo submetido em revista Qualis B2



**NON-CLINICAL IN SILICO AND ACUTE TOXICOLOGY
EVALUATIONS OF FULL SPECTRUM CBD-RICH CANNABIS
EXTRACT**

Journal:	<i>Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences</i>
Manuscript ID	BJPS-2025-0178
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	17-Mar-2025
Complete List of Authors:	Aquino, Debora; Universidade Federal da Paraiba, Centro de Ciências da Saúde de Matos, Thais; UFPB, CCS de Andrade, Geovanna ; UFPB Tavares , Bianca ; UFPB Marreiro, Vinícius; UFPB Ramalho, Igor Gabriel ; UFPB Amschlänger, Thyfanne ; UFPB Souza, Auristela ; UFPB de Oliveira Filho , Abrahao ; UFCG Parentoni, Roberta ; Universidade Federal da Paraíba Diniz, Margareth de Fátima ; Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde Donato, Micheline ; Universidade Federal da Integração Latino-Americana - Unidade PTI
Keyword:	Cannabis, Cannabidiol, Toxicology, In silico test, OECD 423

ANEXO E- Certificado Aprovado na Comissão de Ética no Uso de Animais



Universidade Federal da Paraíba

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA NÃO-CLÍNICA AGUDA E SUB-CRÔNICA E INVESTIGAÇÃO SOBRE A ATIVIDADE NEUROPROTETORA IN VITRO DOS ÓLEOS RICOS EM FITOCANABINOÍDES Delta9-THC", protocolada sob o CEUA nº 6364140223 (ID 001900), sob a responsabilidade de **Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz e equipe; Roberta Nunes Parentoni; Debora Nascimento de Aquino; Thaís de Souza de Matos; Bianca Lira Cordeiro Tavares; Geovanna Leite Ribeiro de Andrade; Micheline Freire Donato** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 21/06/2023.

We certify that the proposal "ACUTE AND SUBCHRONIC NON-CLINICAL TOXICOLOGICAL EVALUATION AND RESEARCH ON THE IN VITRO NEUROPROTECTIVE ACTIVITY OF OILS RICH IN PHOTOCANABINOIDS Delta9-THC", utilizing 120 Heterogenics mice (males and females), protocol number CEUA 6364140223 (ID 001900), under the responsibility of **Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz and team; Roberta Nunes Parentoni; Debora Nascimento de Aquino; Thaís de Souza de Matos; Bianca Lira Cordeiro Tavares; Geovanna Leite Ribeiro de Andrade; Micheline Freire Donato** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 06/21/2023.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 07/2023 a 07/2025 Área: Ciências Farmacêuticas

Origem: Labetox

Espécie: Camundongos heterogênicos

sexo: Machos e Fêmeas

idade: 5 a 7 semanas

Quantidade: 120

Linhagem: Mus musculus - Swiss

Peso: 25 a 40 g

João Pessoa, 30 de janeiro de 2024

Prof. Dr. Luiz Henrique César Vasconcelos
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Profa. Dra. Gláucia Veríssimo Faheina Martins
Vice-Cordenadora da Comissão de Ética no Uso de
Animais
Universidade Federal da Paraíba

