



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE  
CIÊNCIA, VIDA E NATUREZA (ILACVN)**

**BIOTECNOLOGIA**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA NÃO-CLÍNICA *in vivo* AGUDA DE EXTRATOS DE  
*Cannabis Sativa L.* RICOS EM CANABIDIOL (CBD) e CANABIGEROL (CBG)**

**DIEGO ARMANDO MOGOLLON ARIZA**

Foz do Iguaçu  
2025

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA NÃO-CLÍNICA *in vivo* AGUDA DE EXTRATOS DE  
*Cannabis Sativa* L. RICOS EM CANABIDIOL (CBD) e CANABIGEROL (CBG)**

**DIEGO ARMANDO MOGOLLON ARIZA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia

Orientadora: Prof. Dra. Micheline Freire Donato

Foz do Iguaçu  
2025

DIEGO ARMANDO MOGOLLON ARIZA

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA NÃO-CLÍNICA *in vivo* AGUDA DE EXTRATOS DE *Cannabis Sativa L.* RICOS EM CANABIDIOL (CBD) e CANABIGEROL (CBG)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Micheline Freire Donato  
UNILA  
(Orientadora)

---

Prof. Dr. Guilherme Carneiro Montes  
UERJ  
(Membro externo)

---

Dr. Jimmy Fardin Rocha  
CONAES  
(Membro externo)

Foz do Iguaçu, 17 de junho de 2025.

Dedico este trabalho a minha família, base  
do meu caminho.

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, cuja presença e proteção sempre foram um norte em minha vida. A fé foi essencial para manter viva a esperança e a determinação diante dos desafios, guiando-me na realização de importantes conquistas.

À minha família, expresso minha mais profunda gratidão, em especial aos meus pais, tios e irmãos, pelo amor, apoio e incentivo incondicionais. Vocês foram meu alicerce nos momentos difíceis e celebraram comigo cada vitória, por menor que fosse.

À Professora Micheline Donato, minha orientadora nesta jornada, registro minha sincera admiração. Quero agradecer profundamente por todo o aprendizado compartilhado. Acredito que você é uma educadora excelente, que se empenha genuinamente em ensinar, motivar e transmitir o conhecimento com clareza, paciência e entusiasmo. Sua orientação foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho e para minha evolução pessoal e acadêmica.

Ao Professor Kelvinson Fernandes Viana, agradeço pelo suporte técnico, pela colaboração com os animais e pelo apoio fundamental da Clínica POPVET. Estendo meus agradecimentos ao Professor Jean Franciesco Vettorazzi e aos alunos Cristian e Felipe, cuja orientação e auxílio contribuíram significativamente para a execução desta pesquisa. Agradeço, também, à Cinttia e à Manuela, pela parceria, amizade e apoio constante ao longo deste processo. Sua presença tornou esta caminhada mais leve e colaborativa.

À Associação Cannabis Sem Fronteiras (ACSF), manifesto minha gratidão pelo apoio, pela doação dos extratos brutos e pelo auxílio financeiro concedido à pesquisa. Essa parceria foi fundamental para a concretização deste estudo.

Por fim, agradeço à Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA) pela oportunidade de realizar minha graduação em um ambiente inclusivo, que valoriza a diversidade e o crescimento coletivo. Agradeço à PROGRAD/UNILA pelo apoio financeiro e a todos os professores que contribuíram, direta ou indiretamente, para minha formação acadêmica e ampliação de horizontes.

*A educação é a arma mais poderosa que você pode usar  
para mudar o mundo.*  
**Nelson Mandela**

## RESUMO

O crescente interesse no uso terapêutico dos fitocanabinoides, especialmente o canabidiol (CBD) e o canabigerol (CBG), tem impulsionado a necessidade de estudos rigorosos sobre sua segurança toxicológica. Este trabalho avaliou o perfil toxicológico agudo, em dose única, de extratos altamente purificados de *Cannabis sativa* L., contendo 97,5% de CBD e 99,8% de CBG, conforme diretriz 423 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD). Camundongos machos da linhagem BALB/c (n = 4 por grupo) foram alocados em três grupos: controle (veículo TCM + DMSO 7,5%), CBD (TCM + DMSO 7,5%) e CBG (TCM), sendo submetidos a administração oral única (2.000 mg/kg) por gavagem, com observação por 14 dias. Foram monitoradas variáveis clínicas, comportamentais, consumo alimentar e hídrico, peso corporal, além de alterações anatômicas macroscópicas. Os extratos apresentaram boa tolerabilidade, sem mortalidade ou toxicidade grave evidente. No entanto, ambos induziram um perfil bifásico comportamental, com fase inicial de hiperatividade seguida por sedação e analgesia. O CBG causou redução estatisticamente significativa no peso corporal final ( $p < 0,01$ ) e na largura do baço ( $p < 0,05$ ), sugerindo possíveis efeitos imunomoduladores e metabólicos. Por outro lado, o CBD demonstrou tendência ao aumento do peso de órgãos como fígado, rins e testículos, além de esplenomegalia e alterações urogenitais em alguns animais. Nódulos hepáticos isolados foram observados em camundongos tratados com CBG, levantando a hipótese de efeitos adversos localizados. Apesar da ausência de alterações generalizadas nos consumos de água, ração e medidas viscerais, os resultados indicam que CBD e CBG possuem perfis farmacotoxicológicos distintos, com potenciais repercussões sobre sistemas metabólico, imunológico e reprodutivo. Conclui-se que, embora ambos os extratos demonstrem baixa toxicidade aguda por via oral em modelo murino, os efeitos adversos pontuais observados reforçam a importância de ensaios crônicos complementares, com avaliações histopatológicas e bioquímicas para elucidar sua segurança a longo prazo.

**Palavras-chave:** Canabidiol; Canabigerol; Toxicologia; Camundongos BALB/c; *Cannabis sativa* L.

## RESUMEN

El creciente interés terapéutico en los fitocannabinoides, especialmente el cannabidiol (CBD) y el canabigerol (CBG), ha impulsado la necesidad de evaluaciones rigurosas de seguridad. Este estudio evaluó el perfil toxicológico agudo, en dosis única, de extractos altamente purificados de *Cannabis sativa* L., con concentraciones del 97,5% de CBD y 99,8% de CBG, siguiendo la directriz n.º 423 de la OCDE. Ratones machos BALB/c (n = 4 por grupo) fueron distribuidos en tres grupos experimentales: control (TCM + 7,5% DMSO), CBD (TCM + 7,5% DMSO) y CBG (TCM). Se realizó una única administración oral (2.000 mg/kg) por sonda gástrica, y los animales fueron observados durante 14 días para detectar signos clínicos, comportamiento, ingesta de alimento y agua, peso corporal y alteraciones anatómicas macroscópicas. Ambos extractos demostraron buena tolerancia general, sin mortalidad ni toxicidad aguda grave. Sin embargo, se observó un perfil conductual bifásico con ambos fitocannabinoides, caracterizado por una fase inicial de estimulación seguida de sedación y analgesia. El CBG redujo significativamente el peso corporal final ( $p < 0,01$ ) y el ancho del bazo ( $p < 0,05$ ), lo que sugiere efectos inmunológicos y metabólicos específicos. Por otro lado, el CBD mostró una tendencia al aumento del peso de órganos como los riñones, hígado y testículos, además de esplenomegalia y anomalías urogenitales. Se detectaron nódulos hepáticos en ratones tratados con CBG, lo que sugiere efectos adversos localizados. A pesar de la ausencia de cambios significativos en el consumo de agua, alimento o en las dimensiones generales de los órganos, los resultados indican que el CBD y el CBG presentan perfiles farmacotoxicológicos distintos, con posibles impactos sobre los sistemas metabólico, inmunológico y reproductivo. Se concluye que, aunque los extractos ricos en CBD y CBG muestran baja toxicidad aguda por vía oral en modelo murino, los efectos adversos específicos observados refuerzan la necesidad de estudios crónicos y evaluaciones histopatológicas y bioquímicas adicionales.

**Palabras clave:** Cannabidiol; Cannabigerol; Toxicología; Ratones BALB/c; *Cannabis sativa* L.

## ABSTRACT

The growing therapeutic interest in phytocannabinoids, especially cannabidiol (CBD) and cannabigerol (CBG), has driven the need for rigorous safety evaluations. This study assessed the acute toxicological profile, in a single-dose model, of highly purified extracts of *Cannabis sativa* L., containing 97.5% CBD and 99.8% CBG, following OECD guideline No. 423. Male BALB/c mice (n = 4 per group) were distributed into three groups: control (TCM + 7.5% DMSO), CBD (TCM + 7.5% DMSO), and CBG (TCM). A single oral administration (2,000 mg/kg) was performed by gavage, and animals were observed for 14 days for clinical signs, behavior, food and water intake, body weight, and macroscopic anatomical alterations. Both extracts demonstrated good overall tolerability with no mortality or severe acute toxicity. However, a biphasic behavioral profile was observed with both cannabinoids, marked by an initial stimulation phase followed by sedation and analgesia. CBG significantly reduced final body weight ( $p < 0.01$ ) and spleen width ( $p < 0.05$ ), suggesting specific metabolic and immunological effects. In contrast, CBD tended to increase the weight of organs such as kidneys, liver, and testicles, in addition to isolated findings like splenomegaly and urogenital anomalies. Liver nodules were observed in CBG-treated mice, raising concern for localized adverse effects. Despite no significant changes in water or feed intake and general organ dimensions, the findings suggest that CBD and CBG have distinct pharmacotoxicological profiles with potential impacts on metabolic, immune, and reproductive systems. It is concluded that, although CBD- and CBG-rich extracts show low acute oral toxicity in mice, the specific adverse outcomes observed justify further chronic studies and complementary histopathological and biochemical evaluations to ensure long-term safety.

**Key words:** Cannabidiol; Cannabigerol; Toxicology; BALB/c Mice; *Cannabis sativa* L.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Inflorescência e tricomas de <i>Cannabis sativa</i> L.....	16
<b>Figura 2</b> – Principais modificações químicas dos fitocanabinoides na planta .....	21
<b>Figura 3</b> – Algoritmo para procedimento de ensaio de toxicidade aguda .....	34
<b>Figura 4</b> – Consumo médio diário de água por grupo (mL/dia) .....	39
<b>Figura 5</b> – Consumo diário médio de ração (g/dia) dos grupos tratados .....	40
<b>Figura 6</b> – Peso corporal final médio dos grupos experimentais .....	41
<b>Figura 7</b> – Médias de largura (cm) dos órgãos analisados .....	42
<b>Figura 8</b> – Médias de altura (cm) dos órgãos analisados .....	43
<b>Figura 9</b> – Pesos médios dos órgãos (g) dos grupos experimentais .....	44
<b>Figura 10</b> – Protuberância tumoral no fígado (camundongo 2) .....	45
<b>Figura 11</b> – Protuberância tumoral no fígado (camundongo 4) .....	46

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Classificação botânica da <i>Cannabis sativa</i> L. ....	15
<b>Tabela 2</b> – Principais fitocanabinoides: estruturas e identificação molecular .....	19
<b>Tabela 3</b> – Terpenos da <i>Cannabis sativa</i> L. e seus efeitos terapêuticos .....	22
<b>Tabela 4</b> – Formulações administradas aos grupos experimentais .....	33
<b>Tabela 5</b> – Peso médio dos órgãos (g) dos grupos experimentais .....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACSF	Associação Cannabis Sem Fronteiras
CBDA	Ácido Canabidiólico
CBG	Canabigerol
CBGA	Ácido Canabigerólico
CBN	Canabinol
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CPSC	Centro de Produção e Saúde de Cães
DAD	Dificuldade de Aprendizagem e Déficit
DMSO	Dimetilsulfóxido
FDA	Food and Drug Administration (EUA)
IACUC	Institutional Animal Care and Use Committee
INCB	International Narcotics Control Board
OMS	Organização Mundial da Saúde
PET	Programa de Educação Tutorial
POPVET	Clínica Popular Veterinária
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SUS	Sistema Único de Saúde
THC	Tetrahydrocannabinol
THCA	Ácido Tetrahydrocannabinólico
UNILA	Universidade Federal da Integração Latino-Americana

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
1.1	A FARMACOBOTÂNICA DA PLANTA <i>Cannabis Sativa</i> L.....	14
1.2	OS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DA <i>Cannabis Sativa</i> L.....	17
1.2.2	Composição Química e Mecanismos de Ação do CBD e do CBG.....	19
1.2.3	Terpenos e Terpenoides, Flavonoides.....	22
1.3	PRODUTOS DE <i>Cannabis</i> NO BRASIL E O EFEITO COMITIVA.....	23
1.4	LEGISLAÇÃO DA <i>Cannabis</i> NO BRASIL.....	25
1.5	IMPORTÂNCIA DOS ENSAIOS TOXICOLÓGICOS E NÃO CLÍNICOS.....	26
1.6	AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE AGUDA.....	27
1.7	LEGISLAÇÃO BRASILEIRA PARA USO DE ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO...29	
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>30</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	30
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFIOS.....	30
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
4.1	APROVAÇÃO ÉTICA.....	31
4.2	SUBSTÂNCIA TESTE E VEÍCULO.....	31
4.2.1	Doses Utilizadas.....	31
4.3	AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA AGUDA (OECD 423/2001).....	32
4.4	COLETA DE AMOSTRAS E EUTANÁSIA.....	33
4.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	34
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>35</b>
5.1	ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA COMPOSIÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS..	35
5.2	AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E EFEITOS CLÍNICOS DOS EXTRATOS.....	36
5.3	AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE ÁGUA.....	37
5.4	AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE RAÇÃO.....	38
5.5	AVALIAÇÃO PONDERAL.....	39
5.6	AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DOS ÓRGÃOS.....	40
5.6.1	Análise dos Pesos dos Órgãos.....	42
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>47</b>

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>48</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>50</b>
ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO CEUA.....	51
ANEXO B– CERTIFICADO DE ANÁLISE DO ISOLADO DE CBD COA.....	52
ANEXO C– CERTIFICADO DE ANÁLISE DO ISOLADO DE CBG COA.....	53

## 1 INTRODUÇÃO

A planta *Cannabis sativa* L. possui registros históricos de uso milenar, com menções datadas de aproximadamente 4.000 anos na medicina chinesa, abrange desde a alimentação e o uso de fibras até aplicações na medicina tradicional (GONTIÈS, 2003; NASCIMENTO; DALCIN, 2019). Popularmente, também é conhecida por diversos nomes, como *marijuana*, haxixe, *charas*, *bhang*, *ganja* e *sinsemilla*, variando conforme a parte da planta utilizada e a concentração de compostos psicoativos. No Brasil, o termo mais comum é “maconha” (KÁTHIA et al., 2006).

Nas últimas décadas, o interesse científico por essa planta tem se intensificado devido ao seu potencial terapêutico, sobretudo no tratamento de condições refratárias e de difícil manejo terapêutico como epilepsia refratária, dor crônica, esclerose múltipla, câncer, distúrbios de ansiedade, insônia, dentre outros. Esse potencial está relacionado, principalmente, à presença de metabólitos secundários com propriedades farmacológicas relevantes, com destaque para os fitocanabinoides, especialmente o  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol (THC) e o canabidiol (CBD), que apresentam ações anti-inflamatórias, analgésicas, anticonvulsivantes e neuroprotetoras (Andre, Hausman & Guerriero, 2016; Fasakin, Oboh & Ademosun, 2022). Evidências sugerem que seus derivados apresentam potencial para o tratamento de doenças neuropsiquiátricas, inflamatórias e infecciosas, além de exibem propriedades antimicrobianas.

Estudos indicam que a planta possui mais de 400 metabólitos secundários já identificados, e contém uma ampla variedade de princípios ativos como os fitocanabinoides, terpenos, flavonoides e alcalóides, os quais podem atuar sinergicamente na modulação dos efeitos terapêuticos da planta. Essa diversidade fitoquímica tem possibilitado o desenvolvimento de cultivares com perfis específicos, favorecendo a ampliação do uso medicinal da espécie e estimulando a formulação de terapias mais eficazes (Iseppi et al., 2019). A redescoberta do uso terapêutico da *Cannabis*, historicamente valorizada por diferentes culturas tradicionais, tem se aliado aos avanços científicos contemporâneos.

Entre os principais compostos não psicotrópicos que estão sendo aplicados na medicina pode-se destacar o CBD e, com menos frequência o canabigerol (CBG), cujos efeitos farmacológicos estão caracterizados (Izzo et al., 2009; Pisanti et al., 2017; Jastrzab et al., 2022). Essas substâncias podem ser administradas por via oral, sublingual, tópica, retal ou inalatória, modulando receptores canabinoides do tipo 1 (CB1) e 2 (CB2), além de atuarem em outras vias de sinalização celular (Ligresti et al., 2016; Bonn-Miller et al., 2019; Zamarripa et al., 2022). Embora vários estudos explorem os efeitos dos fitocannabinoides no tratamento de patologias clínicas, estudos toxicológicos não-clínicos *in vivo* que avaliem a segurança dos produtos comercializados no Brasil ainda são limitados.

Nesse contexto, o presente projeto propôs a avaliação da toxicidade aguda (dose única) *in vivo* dos fitocannabinoides presentes na *Cannabis sativa*, buscando identificar possíveis efeitos adversos e avaliar a sua gravidade. No contexto brasileiro, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) impõe diretrizes rigorosas para a segurança e eficácia dos novos medicamentos, A Resolução RDC nº 940, de 14 de novembro de 2024, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece diretrizes específicas para o registro de medicamentos à base de plantas medicinais, incluindo os fitoterápicos. Um dos principais objetivos da normativa é assegurar a qualidade, segurança e eficácia desses produtos, exigindo estudos não clínicos e clínicos rigorosamente conduzidos. Essa resolução atualiza os critérios anteriormente vigentes, reforçando a necessidade de comprovação científica da atividade farmacológica dos extratos vegetais utilizados, além de requisitos padronizados de controle de qualidade durante todas as etapas de produção.

A regulamentação também destaca a importância da padronização dos extratos vegetais, um dos maiores desafios enfrentados na pesquisa com fitoterápicos. A variabilidade química natural das plantas, influenciada por fatores ambientais, genéticos e pelo método de extração, pode comprometer a reprodutibilidade dos efeitos terapêuticos. A RDC nº 940/2024 exige que os fabricantes garantam a uniformidade da composição fitoquímica dos extratos, por meio de métodos analíticos validados e parâmetros bem definidos de identificação, teor de marcadores e ausência de contaminantes. Essa padronização é crucial para garantir a segurança do paciente e a efetividade do tratamento.

Além disso, a resolução reforça que os produtos de origem vegetal, mesmo sendo de uso tradicional, não estão isentos de riscos toxicológicos. Dessa forma, torna-se obrigatória a realização de ensaios toxicológicos não clínicos, como os estudos de toxicidade aguda, subcrônica e crônica, além de avaliações de genotoxicidade e mutagenicidade. Esses estudos devem seguir as diretrizes internacionais, como as da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD), sendo adaptados à realidade brasileira. Assim, a RDC nº 940/2024 representa um marco regulatório importante para o avanço da fitoterapia baseada em evidências científicas no Brasil, garantindo o acesso seguro e eficaz a medicamentos de origem vegetal.

### 1.1 A FARMACOBOTÂNICA DA PLANTA *CANNABIS SATIVA* L.

A *Cannabis sativa* L. é uma planta de espécie única, apresentando três subespécies, sendo a *C. sativa sativa*, *C. sativa indica* e *C. sativa ruderalis*. Apesar da dificuldade de distinguir as subespécies da planta tanto química como morfológicamente, uma vez que a *Cannabis* foi uma planta domesticada, logo apresenta contínuas modificações (UNODC, 2009; Van Bakel et al., 2011; Sawler et al., 2015). A seguir a classificação botânica da *Cannabis* segun tabela 1.

A *Cannabis sativa* L. é uma planta dicotiledônea notável por sua ampla distribuição geográfica e elevada plasticidade fenotípica. Apresenta altura variável entre 1 e 5 metros, caule ereto e folhas compostas digitadas, geralmente com 5 a 9 folíolos serrilhados, a depender da predominância de cada subespécie. Nos últimos anos, tem ganhado destaque no campo da biotecnologia vegetal devido a sua capacidade de produzir compostos bioativos com aplicações terapêuticas, como o THC e CBD, além de outros fitocanabinoides de interesse medicinal (RODZIEWICZ; KAYSER, 2020; SCHWABE et al., 2021).

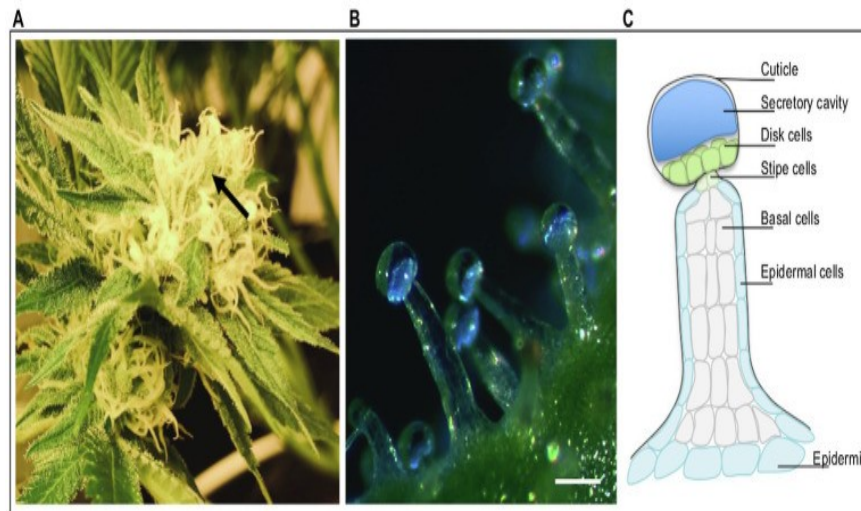
**Tabela 1** - Classificação botânica da *Cannabis sativa* L.

<b>Categoria taxonômica</b>	<b>Classificação</b>
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta (plantas vasculares)
Divisão	Magnoliophyta (plantas com flores)
Classe	Magnoliopsida (dicotiledôneas)
Subclasse	Hamamelididae
Ordem	Urticales
Família	Cannabaceae
Gênero	<i>Cannabis</i> L.
Espécie	<i>Cannabis sativa</i> L.

Fonte: United States Department of Agriculture, 2016.

As inflorescências femininas situam-se na porção apical da planta e são densamente cobertas por tricomas glandulares pedunculados, principais estruturas responsáveis pela biossíntese desses metabólitos. Na Figura 1A, observa-se uma inflorescência individual, onde os cálices e brácteas estão recobertos por aglomerados de tricomas. Já na Figura 1B, uma micrografia em campo escuro revela tricomas glandulares pedunculados projetando-se da epiderme do cálice. A produção dos metabólitos ocorre nas células do disco secretor localizadas na base da cabeça globular do tricoma, e esses compostos são então armazenados em uma cavidade subcuticular translúcida posicionada acima das células secretoras. Conforme a flor amadurece, essa cavidade muda de coloração, passando de branco opaco para marrom escuro. A Figura 1C apresenta uma ilustração esquemática da estrutura completa de um tricoma glandular pedunculado (TANNEY et al., 2021).

**Figura 1** – Inflorescência e tricomas pedunculares de *Cannabis sativa* L.



Fonte: TANNEY et al. (2021).

A domesticação da *Cannabis sativa* remonta a aproximadamente 12 mil anos, provavelmente iniciada nas regiões da Ásia Central, onde era cultivada tanto para fins medicinais quanto industriais. Registros históricos indicam o uso terapêutico da planta na medicina tradicional chinesa por volta de 4.000 a.C., sendo recomendada para o tratamento de condições como reumatismo, constipação e distúrbios neurológicos (BRAND; ZHAO, 2017). Na Índia antiga, a planta foi incorporada ao sistema ayurvédico, considerada sagrada e utilizada em rituais religiosos e práticas medicinais com propriedades sedativas, analgésicas e anti-inflamatórias (CROCQ, 2020). Por meio das rotas comerciais da Antiguidade, a planta disseminou-se pelo Oriente Médio, Norte da África e Europa. Esse processo de expansão da *Cannabis* ao longo da história, a qual ilustra sua dispersão geográfica até alcançar as Américas. Durante os séculos XVI a XVIII, seu cultivo intensificou-se no continente europeu, especialmente para a produção de fibras destinadas à indústria naval, como cordas e velas (STRUICK et al., 2000).

No entanto, no século XX, a *Cannabis* passou a ser alvo de um processo global de criminalização, influenciado por fatores sociopolíticos e econômicos, muitas vezes desvinculados de evidências científicas. A associação da planta a grupos marginalizados e o temor moral impulsionado por campanhas midiáticas nos Estados Unidos resultaram em políticas proibicionistas que se espalharam por diversas regiões do mundo, restringindo severamente a pesquisa científica e o uso terapêutico por décadas (SIMIYU et al., 2022).

Nas últimas décadas, entretanto, observou-se uma revalorização de seu potencial farmacológico, sobretudo no tratamento de epilepsias refratárias, dores crônicas, esclerose múltipla e distúrbios neurológicos (CHAYASIRISOHBON, 2020; HUSSAIN et al., 2021). Esse novo reconhecimento motivou reformas legais em diversos países, permitindo a regulamentação do uso medicinal da *Cannabis sativa* (RANSING et al., 2022). Paralelamente, a planta tem ganhado destaque em setores como cosméticos, alimentação, construção civil e biotecnologia, consolidando seu papel econômico e científico no cenário contemporâneo (ADHIKARY et al., 2021; PROCACCIA et al., 2022).

## 1.2 OS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DA *CANNABIS SATIVA* L.

É uma planta que contém mais de 500 compostos químicos, dos quais aproximadamente 120 são classificados como fitocanabinoides. Esses compostos são predominantemente sintetizados nos tricomas glandulares das flores femininas. A biossíntese dos canabinoides inicia-se a partir do ácido canabigerólico (CBGA), precursor comum dos ácidos tetraidrocanabinólico (THCA), canabidiólico (CBDA) e canabicromênico (CBCA). Esses ácidos, por meio da descarboxilação térmica, originam os canabinoides neutros THC, CBD e CBC, respectivamente (TAURA, 2009)

Conforme a Tabela 2 os principais fitocanabinoides possuem estruturas moleculares distintas, com variações que influenciam diretamente sua afinidade por receptores e suas atividades farmacológicas. O  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol (THC) é o principal composto psicoativo da planta, com propriedades psicotomiméticas, atuando no corpo humano como um agonista parcial dos receptores canabinoides CB1 e CB2. Em contrapartida, o canabidiol (CBD) apresenta baixa afinidade direta por esses receptores, mas modula sua atividade por meio de interações alostéricas. Além disso, atua também sobre receptores não canabinoides que integram o sistema endocanabinoide expandido (endocanabinoma), como TRPV1, 5-HT1A e PPAR- $\gamma$ . Essas propriedades farmacológicas conferem ao CBD potencial terapêutico em condições como epilepsia, ansiedade, esquizofrenia e doenças inflamatórias (IBEAS BIH et al., 2015).

**Tabela 2**– Principais fitocanabinoides: estruturas, nome oficial e identificação molecular

Nome comum	Nome oficial (IUPAC)	Fórmula molecular	Peso molecular (g/mol)	Estrutura (SMILES)
THC ( $\Delta^9$ -THC)	(-)-trans- $\Delta^9$ -tetraidrocannabinol	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	314,46	<chem>CC(C)=CCC1=C C2=C(C=C1)C(C (C)C)=CC(C2)= O</chem>
CBD	Canabidiol	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	314,46	<chem>CC(C)=CCC1=C C(=C(C=C1)O)C (C2=CC(=C(C=C 2)O)C)=C</chem>
CBG	Canabigerol	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	316,48	<chem>CCCCC1=CC( =C(C=C1)O)C(C 2=CC(=C(C=C2) O)C)=C</chem>
CBC	Canabicromeno	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	314,46	<chem>CC(C)=CCC1=C C2=C(C=C1)OC CC2C</chem>

Fonte: Adaptado de APPENDINO et al. (2008); RUSSO (2011); PUBCHEM (2024).

O sistema endocanabinoide (SEC) humano é composto por ligantes endógenos, como a anandamida e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG), seus receptores (CB1 e CB2) e as enzimas responsáveis por sua síntese (DAGL e NAPE-PLD) e degradação, como a FAAH e a MAGL. Os fitocanabinoides da *Cannabis sativa* interagem com o SEC modulando processos fisiológicos como dor, humor, apetite, sono e resposta imunológica (MACCARRONE et al., 2015). Além disso, há evidências de que esses compostos também influenciam receptores dopaminérgicos, glutamatérgicos e ampliando seu espectro farmacológico.

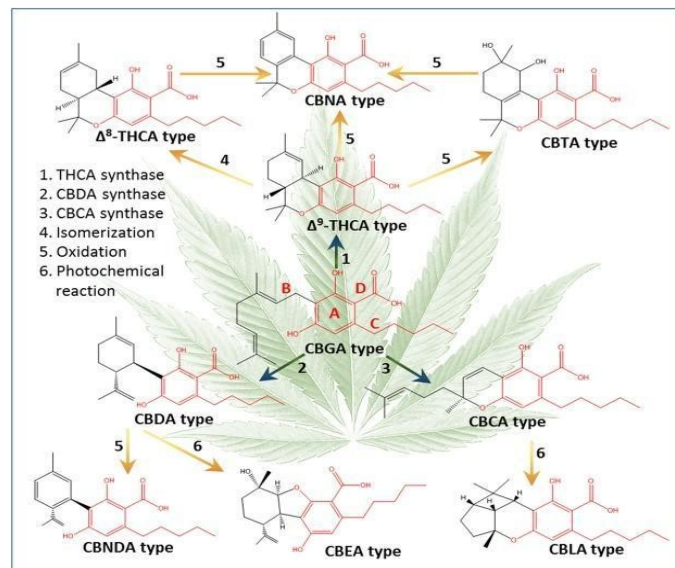
O canabigerol (CBG), embora presente em menores concentrações na planta, tem despertado interesse devido às suas propriedades farmacológicas. Estudos indicam que o CBG atua sobre receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos, apresenta antagonismo moderado sobre os receptores 5-HT1A e possui atividade antibacteriana contra cepas resistentes, como o *Staphylococcus aureus* MRSA. Além disso, demonstrou eficácia na redução da inflamação em modelos experimentais de doenças inflamatórias intestinais,

sugerindo seu potencial como agente imunomodulador e antibacteriano (APPENDINO et al., 2008).

### 1.2.2 Composição Química e Mecanismos de Ação do CBD e do CBG

Os fitocanabinoides são inicialmente sintetizados por meio de reações enzimáticas, contudo, podem sofrer reações secundárias, sendo a mais relevante a descarboxilação não enzimática, que gera os fitocanabinoides na forma neutra (ARAÚJO, 2017). Na *Cannabis sativa*, o principal precursor biossintético dos fitocanabinoides é o ácido canabigerólico (CBGA), que, por ação de enzimas específicas, é convertido nos ácidos canabidiólico (CBDA) e tetrahydrocanabinólico (THCA) (Figura 2). Durante o ciclo de floração, ocorre a descarboxilação parcial destes ácidos, resultando na formação dos canabinoides neutros tetrahydrocanabinol (THC) e canabidiol (CBD). Ao final da fase de floração, os níveis de CBGA na planta são reduzidos significativamente, permanecendo em concentrações mínimas, que podem ser convertidas em canabigerol (CBG). Adicionalmente, esse processo pode ser induzido artificialmente pelos cultivadores com o objetivo de maximizar os teores de THC e CBD antes da colheita e extração (BERMAN et al., 2018).

**Figura 2** – Principais modificações químicas dos fitocanabinoides na planta



Fonte: Berman et al., 2018.

O CBG, por sua vez, apresenta afinidade moderada pelos receptores CB1 e CB2, especialmente este último, atuando como agonista parcial (MORENO-SANZ,

2016). Também modula canais TRPV1 e TRPA1 e age como agonista do receptor PPAR- $\gamma$ , influenciando a expressão gênica associada ao metabolismo lipídico e à inflamação.

Estudos recentes destacam o potencial terapêutico do CBG em diversas condições. Em modelos animais, o CBG demonstrou efeitos antinociceptivos superiores aos do CBD em testes de dor inflamatória e neuropática, atuando por meio da ativação dos canais TRPV1 e do receptor CB2, além de estimular a liberação de  $\beta$ -endorfina, o que pode contribuir para o alívio da dor (MORENO-SANZ, 2016). Adicionalmente, mostrou eficácia na redução da inflamação em culturas de fibroblastos sinoviais de pacientes com artrite reumatoide, modulando a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e IL-8. (LOWIN et al., 2023).

Os fitocanabinoides canabidiol (CBD) e canabigerol (CBG), compostos não psicoativos da *Cannabis sativa L.*, têm despertado interesse devido às suas propriedades farmacológicas promissoras, como ação anti-inflamatória, antioxidante e regeneradora. Presentes majoritariamente nos tricomas das inflorescências femininas da planta, esses compostos interagem com o sistema endocanabinoide humano, modulando processos fisiológicos por meio dos receptores CB1 e CB2, além de vias paralelas. De acordo com Oliveira (2025), o CBD demonstrou capacidade de estimular a proliferação de queratinócitos (HaCaT) e manter a viabilidade celular por 144 horas, enquanto o CBG, apesar de promover proliferação em fibroblastos (HFF-1), reduziu significativamente o conteúdo proteico total, revelando efeitos que variam conforme a linhagem celular e a dose utilizada.

Além das respostas celulares específicas, estudos recentes apontam que o CBD e o CBG podem atuar em vias metabólicas como AMPK e MAPK, relacionadas à regulação da homeostase energética, biogênese mitocondrial e resposta inflamatória. Esses mecanismos indicam que tais compostos não apenas exercem efeitos regenerativos, mas também influenciam o metabolismo energético basal. O CBD, por exemplo, está associado à inibição da lipogênese e ao aumento da oxidação de ácidos graxos, enquanto o CBG atua na diferenciação celular e na proteção contra o estresse oxidativo, o que pode refletir em alterações significativas no perfil metabólico das células tratadas (Perez et al., 2022; Stella, 2023).

Embora ainda sejam necessários mais estudos para comprovar sua eficácia clínica, há evidências preliminares que sugerem um possível efeito termogênico associado ao uso de fitocanabinoides. Esse efeito pode ocorrer indiretamente, por meio

da modulação da atividade mitocondrial e da expressão de genes ligados ao metabolismo energético, com potencial aplicação no manejo de síndromes metabólicas, obesidade e inflamações crônicas. Dessa forma, os fitocanabinoides como o CBD e o CBG se destacam como compostos bioativos com múltiplos alvos, abrindo caminho para o desenvolvimento de novos produtos terapêuticos e nutracêuticos voltados à saúde metabólica (Oliveira, 2025).

As propriedades farmacocinéticas dos canabinoides variam conforme a via de administração. Quando ingeridos por via oral, sofrem metabolismo de primeira passagem hepática, resultando em biodisponibilidade reduzida (10–20%). O THC é metabolizado principalmente pelas enzimas CYP2C9 e CYP3A4 em 11-OH-THC, o principal metabólito ativo. O CBD é metabolizado predominantemente Estas reações metabólicas são catalisadas pelas enzimas do citocromo P450 2C19 (CYP2C19), citocromo P450 3A4 (CYP3A4) e pelas enzimas da família UDP-glicuronosiltransferase (UGTs) o que ressalta a importância de considerar interações medicamentosas em pacientes que utilizam múltiplos fármacos (HUESTIS, 2007).

Do ponto de vista toxicológico, o CBD é geralmente bem tolerado, mesmo em doses elevadas (>600 mg/dia), sendo aprovado para uso terapêutico em casos de epilepsias refratárias, como as Síndromes de Dravet e Lennox-Gastaut. Em contrapartida, o THC, em doses elevadas, pode causar efeitos adversos como ansiedade, taquicardia, hipotensão, prejuízo da memória e tolerância, especialmente em adolescentes e indivíduos predispostos a distúrbios psiquiátricos (IFFLAND; GROTENHERMEN, 2017).

Há um interesse crescente no uso de canabinoides como agentes antitumorais. Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstram que compostos como o CBD e o THC podem inibir a proliferação celular, induzir apoptose e inibir a angiogênese em linhagens de câncer de mama, próstata, glioma e leucemia. Esses efeitos são mediados por mecanismos que envolvem o estresse oxidativo, regulação de proteínas antiapoptóticas e modulação de vias de sinalização como PI3K/AKT e MAPK (MASSI et al., 2013). Portanto, a *Cannabis sativa* L. apresenta-se como uma fonte promissora de compostos bioativos com amplo potencial farmacológico.

No contexto oncológico, tanto o CBD quanto o CBG apresentaram citotoxicidade em modelos *in vitro* de câncer colorretal, induzindo morte celular por vias distintas. O CBD promoveu apoptose, enquanto o CBG provocou necrose, sugerindo aplicações complementares no tratamento do câncer (GWYNNE; GONZÁLEZ, 2020). Além disso, o CBG demonstrou atividade antimicrobiana significativa contra bactérias

Gram-positivas, incluindo cepas multirresistentes, sem comprometer a microbiota cutânea (MORENO-SANZ, 2016).

### 1.2.3 Terpenos e Terpenoides, Flavonoides.

Além dos canabinoides, a *Cannabis sativa* produz uma gama diversa de compostos aromáticos voláteis conhecidos como terpenos e terpenoides. Entre os principais, destacam-se o mirceno, limoneno, pineno e linalol. Esses compostos não apenas conferem o aroma característico da planta, mas também desempenham funções farmacológicas importantes, com propriedades analgésicas, ansiolíticas, antifúngicas, anti-inflamatórias e broncodilatadoras (Russo, 2011). A crescente valorização desses metabólitos secundários no contexto terapêutico deve-se à hipótese do “efeito entourage” ou “efeito comitiva”, segundo a qual há uma sinergia funcional entre canabinoides, terpenos e flavonoides que intensifica os efeitos terapêuticos globais da planta. Essa hipótese reforça a importância de utilizar extratos integrais de *Cannabis*, em vez de compostos isolados, para obtenção de benefícios clínicos mais amplos e eficazes (Ferber et al., 2020).

As interações entre esses compostos ainda estão sendo amplamente estudadas, mas evidências preliminares sugerem que os terpenos modulam não apenas a biodisponibilidade dos canabinoides, como também influenciam diretamente a atividade de receptores endocanabinoides e neurotransmissores centrais (Pamplona; da Silva; Coan, 2018). A Tabela 3 apresenta os principais terpenos da *Cannabis sativa* e seus mecanismos de ação propostos. O mirceno, por exemplo, aumenta a permeabilidade da barreira hematoencefálica, favorecendo a ação do THC no sistema nervoso central. Já o limoneno tem efeitos ansiolíticos por meio da modulação da serotonina e da dopamina. O pineno age como broncodilatador e anti-inflamatório, inibindo citocinas como TNF- $\alpha$  e IL-6, enquanto o linalol atua como calmante e anticonvulsivante ao ativar receptores GABA-A (Russo, 2011; Andre et al., 2016; Baron et al., 2018).

**Tabela 3** – Terpenos da *Cannabis sativa* L. e seus efeitos terapêuticos

TERPENO	EFEITO TERAPÊUTICO PRINCIPAL	POSSÍVEL MECANISMO DE AÇÃO
MIRCENO	Analgésico, sedativo	Potencializa a permeabilidade da barreira hematoencefálica
LIMONENO	Ansiolítico, antidepressivo	Modula neurotransmissores como serotonina e dopamina
PINENO	Anti-inflamatório, broncodilatador	Inibe mediadores inflamatórios (TNF- $\alpha$ , IL-6)
LINALOL	Calmante, anticonvulsivante	Ativa receptores GABA-A e modula canais de cloreto

Fonte: Adaptado de RUSSO (2011); ANDRE et al. (2016).

Outro grupo de compostos bioativos presentes na *Cannabis sativa* são os flavonoides, destacando-se as canaflavinas A e B. Esses flavonoides apresentam propriedades anti-inflamatórias potentes, inibindo a produção de prostaglandina E2 (PGE2), além de efeitos antioxidantes e neuroprotetores. Estudos indicam que as canaflavinas são significativamente mais eficazes que o ácido acetilsalicílico na inibição da PGE2, sem os efeitos adversos associados aos inibidores da ciclooxigenase (COX) (BARRETT et al., 1985).

Além disso, apresentam propriedades antioxidantes e neuroprotetoras, o que amplia seu potencial uso terapêutico em doenças inflamatórias e neurodegenerativas. Portanto, a presença de terpenos e flavonoides na composição química da *Cannabis sativa* contribui significativamente para o perfil terapêutico da planta. Ao atuarem em conjunto com os canabinoides, esses compostos promovem efeitos farmacológicos mais amplos, duradouros e, possivelmente, com menos efeitos colaterais. A compreensão do “efeito comitiva” tem se mostrado fundamental para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas mais eficazes e alinhadas com os princípios da medicina personalizada.

### 1.3 PRODUTOS DE *CANNABIS* NO BRASIL E O EFEITO COMITIVA

A expansão do mercado de produtos derivados da *Cannabis sativa* no Brasil intensificou-se a partir de 2015, impulsionada por mobilizações sociais e mudanças regulatórias promovidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O canabidiol (CBD), principal composto não psicoativo da planta, passou a ser prescrito no país, ainda sob regulamentações restritas. Atualmente, os produtos derivados de *Cannabis* são regulados principalmente pela RDC nº 327/2019, que autoriza a

comercialização temporária em farmácias, e pela RDC nº 660/2022, que regulamenta a importação para uso pessoal mediante prescrição médica (Gallassi et al., 2025).

O chamado “efeito comitiva” (*entourage effect*) refere-se à sinergia entre canabinoides, terpenos e flavonoides naturalmente presentes na planta. Esse conceito sugere que produtos de espectro completo, contendo a totalidade dos compostos bioativos da planta, apresentam maior eficácia terapêutica do que formulações baseadas em compostos isolados, como o CBD puro (Ramella et al., 2020). Apesar das evidências crescentes sobre esse efeito, a regulação brasileira segue priorizando produtos com CBD isolado ou com baixo teor de  $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta 9$ -THC), o que limita o acesso a formulações fitoquímicas mais complexas (Gallassi et al., 2025). Estudos apontam que os produtos autorizados pela RDC nº 327/2019 apresentam rotulagem mais acessível e transparente do que os produtos importados sob a RDC nº 660/2022. Essa diferença evidencia disparidades na padronização e reforça a necessidade de aprimoramento regulatório e de fiscalização quanto à qualidade das informações disponibilizadas aos prescritores e pacientes (Gallassi et al., 2025).

Produtos com perfil fitoquímico completo demonstram vantagens terapêuticas importantes, especialmente no manejo de condições clínicas como epilepsia refratária, dor neuropática e transtornos psiquiátricos (Ramella et al., 2020). Entretanto, a legislação brasileira restringe o acesso a essas formulações ao não permitir o cultivo e a produção nacional em escala, salvo quando autorizado judicialmente (Gallassi et al., 2025).

Além disso, muitos produtos importados apresentam rótulos com informações incompletas ou inconsistentes, ausência de certificações laboratoriais padronizadas e falhas nos controles de contaminantes. Esses fatores comprometem não apenas a eficácia terapêutica, mas também a segurança dos pacientes (Gallassi et al., 2025).

O Brasil ainda carece de políticas públicas que reconheçam e integrem o efeito comitiva no marco regulatório dos medicamentos à base de *Cannabis*. A regulação vigente, centrada em aspectos jurídicos e administrativos, negligencia o potencial terapêutico integral da planta e limita a inovação no desenvolvimento de formulações mais eficazes (Ramella et al., 2020; Gallassi et al., 2025).

Essa limitação aprofunda desigualdades de acesso. Pacientes com maior poder aquisitivo conseguem importar produtos com melhor composição e eficácia clínica, enquanto a maioria da população permanece dependente de opções padronizadas, com potencial terapêutico reduzido. Portanto, é fundamental que a legislação brasileira avance com base em evidências científicas atualizadas. É necessário promover o incentivo à pesquisa clínica nacional, reconhecer os benefícios do espectro completo e consolidar diretrizes que incorporem o efeito comitativa como parâmetro terapêutico e regulatório legítimo no país.

#### 1.4 LEGISLAÇÃO DA *CANNABIS* NO BRASIL

Desde 2015, a legislação brasileira sobre o uso medicinal da *Cannabis sativa* tem passado por mudanças importantes, ainda que limitadas e marcadas por contradições. A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 660/2022, principal norma atualmente vigente, permite a importação de produtos à base de *Cannabis* por pessoas físicas, desde que sejam atendidas exigências como prescrição médica, cadastro prévio na ANVISA e comprovação de regularização do produto no país de origem (Brasil, 2022a).

Além da prescrição, a importação requer documentação complementar, como fatura comercial e comprovante de endereço. Embora essas exigências tenham como objetivo garantir a segurança do paciente, acabam gerando um processo burocrático que restringe o acesso, especialmente entre indivíduos de baixa renda (Gallassi et al., 2025).

Em complemento, a RDC nº 327/2019 autoriza a comercialização de produtos de *Cannabis* em farmácias mediante autorização sanitária temporária. No entanto, tais produtos ainda não passaram por avaliação conclusiva de eficácia ou segurança, sendo exigido que as empresas apresentem estudos clínicos dentro de um período de cinco anos (Brasil, 2019). Paralelamente, o cultivo da planta continua proibido pela Lei nº 11.343/2006, sendo viabilizado apenas por decisões judiciais, o que inviabiliza a produção nacional em escala e encarece o tratamento (Gallassi et al., 2025).

A RDC nº 660/2022 veda expressamente a comercialização, doação ou compartilhamento de produtos importados (art. 15), o que impossibilita sua inclusão em

políticas públicas de acesso coletivo ou distribuição gratuita pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (Brasil, 2022a). Além disso, a ausência de critérios claros sobre o teor permitido de  $\Delta$ 9-THC em produtos nacionais impede o avanço de formulações que poderiam se beneficiar do efeito comitiva (Ramella et al., 2020).

Outro entrave é a ausência de políticas de fomento à pesquisa científica no campo da *Cannabis medicinal*. A falta de incentivos institucionais e financiamento público compromete a produção de conhecimento nacional e marginaliza o desenvolvimento de medicamentos acessíveis e com respaldo técnico (Gallassi et al., 2025).

É urgente regulamentar o cultivo, a produção e a comercialização de medicamentos à base de *Cannabis* com base em evidências científicas robustas e experiências internacionais bem-sucedidas. Isso inclui a criação de diretrizes técnicas para avaliação de eficácia clínica, segurança, controle de qualidade por boas práticas de fabricação (GMP) e padronização de certificações laboratoriais (Gallassi et al., 2025).

A consolidação de uma política nacional sobre a *Cannabis medicinal* exige articulação entre ANVISA, Ministério da Saúde, universidades, setor produtivo e sociedade civil. Apenas com essa integração será possível garantir acesso seguro, universal e equitativo a tratamentos à base de *Cannabis*, promovendo saúde pública com base na ciência e nos direitos sociais.

## 1.5 IMPORTÂNCIA DOS ENSAIOS TOXICOLÓGICOS E NÃO CLÍNICOS.

Os ensaios toxicológicos desempenham um papel essencial no desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que permitem a identificação precoce de potenciais riscos à saúde humana. Esses estudos são classificados em ensaios clínicos e não clínicos, sendo os últimos fundamentais para a triagem inicial de compostos antes da testagem em seres humanos. Ensaio não clínicos envolvem métodos *in silico*, *in vitro* e *in vivo*, sendo que os primeiros buscam reduzir o uso de animais e aumentar a reprodutibilidade dos resultados, enquanto os testes *in vivo* ainda são necessários para avaliar interações sistêmicas complexas, como a farmacocinética da substância (KNOP; MARIA, 2016).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece diretrizes para garantir a segurança e eficácia de novos medicamentos,

incluindo fitoterápicos. O desenvolvimento desses produtos enfrenta desafios como a padronização de extratos vegetais e a comprovação de sua atividade farmacológica, tornando os ensaios toxicológicos indispensáveis nesse processo (BRASIL, 2014). Além disso, diferenças nas normas internacionais dificultam a harmonização dos critérios de avaliação, exigindo adaptação dos estudos conforme as exigências regulatórias de cada país (LORENZI; MATOS, 2008).

No Brasil, a ANVISA estabelece diretrizes específicas para estudos não clínicos de segurança toxicológica de insumos vegetais e fitoterápicos, conforme a Resolução RDC nº 26/2014, que exige a apresentação de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica antes dos ensaios clínicos em humanos, empregando como parâmetro mínimo as orientações do “Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica” da ANVISA, alinhado a referências da OMS e ICH (Brasil, 2014; ANVISA, 2014). Ademais, a harmonização internacional, como as diretrizes da OCDE para testes de toxicidade, impõe a validação de métodos e padronização de extratos vegetais conforme ensaios aceitáveis globalmente, exigindo que cada protocolo seja adaptado às exigências regulatórias de diferentes regiões (OCDE, 2018; Pamplona et al., 2018). Desse modo, a integração de estratégias computacionais, celulares e animais, aliada ao cumprimento rigoroso das normativas nacionais e diretrizes internacionais, é fundamental para assegurar que somente compostos com perfil toxicológico aceitável avancem para testes clínicos, protegendo a saúde dos participantes e garantindo a qualidade e a credibilidade dos produtos no mercado.

## 1.6 AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE AGUDA

Para registro de medicamentos e, em menor grau, a maioria dos outros produtos de consumo são rotineiramente testados quanto à segurança. O objetivo é caracterizar os potenciais efeitos tóxicos dos componentes ativos do produto, estimar o grau de perigo em uso e entender o mecanismo de toxicidade induzida pelo produto. A toxicidade é um parâmetro necessário de qualquer estudo *in vivo* ou *in vitro* que atenda a esse objetivo (PURCHASE et al., 1998). Esses estudos são realizados seguindo protocolos bem aceitos internacionalmente, ainda que, dentro desse escopo aprovado, as exigências legais variem de país para país (LAPA et al., 2003).

No estudo de toxicidade aguda, os animais são tratados uma única vez com o produto em teste ou, eventualmente, com doses parceladas em período não superior a 24 horas (LAPA et al., 2003). O teste permite conhecer a espécie mais sensível e o índice de letalidade; a forma de morte produzida pelo excesso dos produtos em teste e os órgãos-alvo; as alterações comportamentais e os sinais que precedem a morte; as alterações hematológicas, da bioquímica plasmática e urinária; prever risco para espécies não alvo ou toxicidade às espécies-alvo; fornecer informações para avaliação dos riscos de exposição aguda ao produto; selecionar os valores de dose para estudos prolongados; prever o mecanismo de toxicidade e a relação estrutura-atividade; indicar as lesões dos órgãos afetados; e verificar os efeitos tardios do tratamento e se há reversibilidade da resposta tóxica (HAYES & DiPASQUALE, 2001). Esse teste agudo é obrigatório para todos os tipos de materiais em teste, independentemente do tempo de uso proposto para a espécie humana, pois evidencia o risco de intoxicações agudas, inadvertidas ou não, e a forma de preveni-las (KLAASSEN, 2007).

A principal vantagem de usar modelo animal para testar a segurança do produto é que este representa um modelo inclusivo de todos os fatores envolvidos na exposição humana. A dosagem pode ser realizada pela via de administração pretendida, e o produto químico é distribuído e modificado por mecanismos fisiológicos e bioquímicos adequados, o que permite determinar a concentração da substância ou de seus metabólitos reativos nos órgãos-alvo afetados. Apesar da semelhança dos fatores envolvidos, o valor preditivo dos animais para a segurança humana pode ser superestimado, pois a toxicidade observada em animais nem sempre prediz a toxicidade em humanos (PURCHASE et al., 1998).

Os testes de toxicidade geral devem apresentar uma relação dose-efeito satisfatória e permitir o estabelecimento de uma relação clara de causa e efeito. A experiência da equipe, as condições dos laboratórios, a qualidade dos animais e a definição clara dos objetivos são fatores mais importantes do que o simples cumprimento de normas rígidas dos protocolos oficiais (LAPA et al., 2003).

A DL50 (dose letal 50%) é, em sua forma mais simples, a dose de um composto que provoca a mortalidade de 50% de uma população. Uma definição mais precisa foi fornecida pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico

(OECD) como a "dose única, calculada estatisticamente, de uma substância que pode ser esperada para causar a morte em 50% dos animais" (OECD, 1991). Em outras palavras, a DL50 de um composto não é uma constante — ainda que muitas vezes seja tratada como tal — mas sim um valor estatístico desenvolvido para descrever a resposta letal de um composto em uma determinada população, sob um conjunto específico de condições experimentais (HAYES & DiPASQUALE, 2001).

## 1.7 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA PARA USO DE ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

O Comitê das Diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), por meio da Resolução Normativa nº 18 de 24 de setembro de 2014, estabelece como referência no Brasil os métodos alternativos validados internacionalmente e reconhecidos pelo Conselho. Entre os métodos aceitos estão o Fixed Dose Procedure (FDP), o Acute Toxic Class Method (ATC) e o Up-and-Down Procedure (UDP). Estes métodos são internacionalmente reconhecidos por organismos como a OECD, ICCVAM, EURL ECVAM e Japansk Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM) (BRASIL, 2014).

A Resolução visa promover o uso de métodos alternativos ao uso de animais nas pesquisas científicas, sempre que possível, e representa um avanço importante na legislação de proteção animal, alinhando o Brasil aos padrões internacionais de ética em experimentação (BRASIL, 2014).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil toxicológico agudo - dose única, de extratos de *Cannabis sativa* rico em canabidiol (CBD) e canabigerol (CBG), em modelo experimental com camundongos, de acordo com a diretriz OECD nº 423.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFIOS

- Investigar de modo observacional possíveis alterações comportamentais no sistema nervoso central (SNC) e sistema nervoso autônomo, após administração oral do extrato.
- Estimar a dose letal mediana ( $DL_{50}$ ) dos extratos de *Cannabis sativa* rico em CBD e CBG.
- Avaliar a variação ponderal dos camundongos BALB/c durante o período experimental.
- Monitorar o consumo de água e ração nos animais submetidos à administração do extrato por via oral.
- Realizar avaliação anatomopatológica macroscópica dos principais órgãos (fígado, rins, baço, coração), por meio de pesagem e mensuração, a fim de detectar alterações morfológicas associadas à exposição ao extrato.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 APROVAÇÃO ÉTICA

Este estudo foi conduzido em conformidade com os princípios éticos para o uso de animais em pesquisa científica, conforme estabelecido pela Lei nº 11.794/2008, pelo Decreto nº 6.899/2009 e pelas diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA), sob o certificado nº 3/2025/CEUA (10.01.05.19.05), vinculado ao protocolo nº 23422.001930/2025-81, durante a reunião realizada em 12 de fevereiro de 2025 (ver Anexo A – Cópia do parecer do CEUA; Anexo B – Declaração de conformidade ética com as normas legais e do CONCEA).

### 4.2 SUBSTÂNCIA TESTE E VEÍCULO

Certificado de origem, emitido pela própria associação doadora, assegurando a qualidade e a rastreabilidade da substância (ver Anexo C – Certificado de análise e origem do extrato).

#### 4.2.1 Doses Utilizadas

Para a avaliação da toxicidade aguda, foi utilizada uma dose única de 2.000 mg/kg, administrada por via oral (gavage), conforme preconizado pelo protocolo da OECD 423 (2001). A seleção dessa dose seguiu os critérios estabelecidos pelo limite máximo recomendado para estudos de toxicidade aguda, visando identificar possíveis efeitos adversos relevantes. Considerando o peso médio dos animais e uma solução previamente preparada na concentração de 300 mg/mL, cada animal recebeu 200 µL (0,2 mL) da formulação testada. O cálculo da dose foi realizado da seguinte forma: dose-alvo de 2.000 mg/kg multiplicada pelo peso do animal (0,03 kg), resultando em 60 mg por animal. Para atingir essa quantidade, o volume necessário da formulação foi de 0,2 mL por animal (60 mg/ 300 mg/mL).

Devido à baixa solubilidade dos canabinoides em óleo triglicérido de cadeia média (TCM), foram realizadas adaptações nas formulações para garantir estabilidade e biodisponibilidade adequadas dos compostos. As formulações finais utilizadas nos grupos experimentais encontram-se descritas na Tabela 4.

**Tabela 4** – Formulações administradas aos grupos experimentais

GRUPO EXPERIMENTAL	COMPOSIÇÃO DA FORMULAÇÃO	VIA DE ADMINISTRAÇÃO
GRUPO 1 – CONTROLE	Óleo TCM + 7,5% de DMSO	Oral (gavagem)
GRUPO 2 – CBG	Extrato de CBG em óleo TCM (sem DMSO)	Oral (gavagem)
GRUPO 3 – CBD	Extrato de CBD em óleo TCM + 7,5% de DMSO	Oral (gavagem)

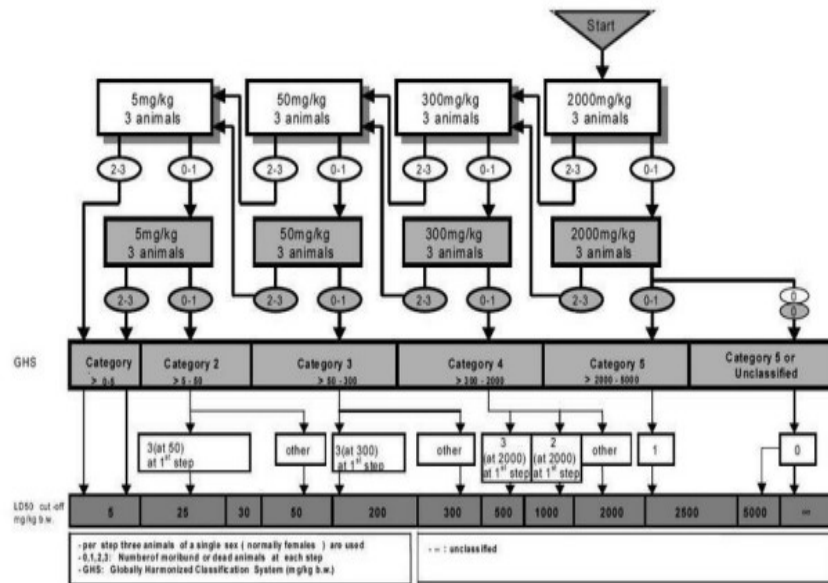
Fonte: O autor (2025).

O volume de administração foi padronizado em 200 µL por animal, por via oral (*gavagem*). O DMSO foi incluído na formulação do grupo CBD como co-solvente para promover a solubilização adequada do fitocanabinoide no veículo oleoso, respeitando o limite seguro de até 10% (v/v) preconizado em modelos murinos, sem induzir efeitos tóxicos.

#### 4.3 AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA AGUDA (OECD 423/2001).

O experimento foi iniciado em 20 de maio de 2025 e seguiu as diretrizes descritas no Guia nº 423 da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2001), com adaptações conforme as especificidades da formulação testada. Os animais foram observados individualmente nos intervalos de 30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos após a administração no primeiro dia, e, posteriormente, uma vez ao dia durante 14 dias consecutivos, descritas na Figura 3.

**Figura 3** – Algoritmo para procedimento de ensaio de toxicidade aguda com dose inicial de 2000 mg/kg



Fonte: Adaptado de OECD (2001).

#### 4.4 COLETA DE AMOSTRAS E EUTANÁSIA

Ao final do período de observação de 14 dias, os animais sobreviventes foram submetidos à eutanásia por superdosagem anestésica, administrada por via intraperitoneal com cetamina a 300 mg/kg e xilazina a 30 mg/kg, em conformidade com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Para um animal de 0,03 kg, a dose corresponde a 9 mg de cetamina e 0,9 mg de xilazina; considerando-se soluções comercialmente usuais a 10% (10 mg/mL) para ambos os fármacos, os volumes injetados foram de aproximadamente 0,9 mL de cetamina e 0,09 mL de xilazina, totalizando cerca de 0,99 mL por animal. Após confirmação do óbito, realizou-se necropsia para avaliação anatomopatológica macroscópica, coletando-se, em cada indivíduo, cérebro, pulmões, coração, fígado, baço, rins, estômago e intestino. O peso e as características morfológicas de cada órgão foram registrados individualmente. Foram analisados os seguintes processos patológicos: alterações celulares, intersticiais, vasculares, inflamatórias e distúrbios no crescimento e diferenciação celulares (JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983).

#### 4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram expressos como média e erro-padrão da média, e normalizados quando necessário. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa GraphPad Prism, versão 8.0. Os dados foram analisados por meio do teste  $t$  de Student pareado e da ANOVA unifatorial ou bifatorial, conforme a complexidade do experimento. Para comparações entre mais de duas amostras, foi aplicado o pós-teste de Bonferroni ou Newman-Keuls. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando apresentaram valores de  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DA COMPOSIÇÃO DO EXTRATO BRUTO DE *CANNABIS SATIVA* L.

A análise cromatográfica dos extratos integrais de *Cannabis sativa* L. evidenciou alta pureza dos dois principais fitocanabinoides isolados: 97,5% para o canabidiol (CBD) e 99,8% para o canabigerol (CBG). Esses resultados corroboram a eficácia do método de extração hidroalcoólica em Soxhlet seguido de concentração em rotaevaporador, alinhando-se com protocolos farmacopeicos recomendados (Bonini et al., 2018). A ausência de tetrahydrocannabinol (THC) em níveis superiores a 0,3% é crítica para evitar efeitos psicoativos em estudos pré-clínicos, assegurando que as respostas observadas sejam atribuídas exclusivamente ao CBD ou ao CBG.

A formulação foi adaptada para administração oral por meio de veículo lipídico (óleo TCM), o que se justifica devido à alta lipofilia dos canabinoides e à necessidade de otimizar sua biodisponibilidade oral (Paudel et al., 2010). No entanto, a baixa solubilidade do CBD no TCM exigiu a adição de 7,5% de DMSO como co-solvente. Tal concentração é considerada segura em modelos murinos (<10% v/v), sem apresentar toxicidade significativa (Galvão et al., 2021). Em contraste, o CBG dispensou a adição de DMSO, o que sugere maior afinidade pelo veículo lipídico, possivelmente em razão de diferenças estruturais em sua cadeia lateral (Nachnani et al., 2021).

Além disso, o volume padronizado de 200 µL por animal foi utilizado para evitar desconforto gastrointestinal e garantir a eficácia da administração oral. A inclusão de um grupo controle contendo DMSO no veículo permitiu isolar possíveis efeitos comportamentais atribuíveis ao co-solvente, assegurando validade metodológica. Tais ajustes foram fundamentais para garantir a estabilidade farmacológica das formulações e a reprodutibilidade dos ensaios *in vivo* (Deabold et al., 2019).

Análise segundo o algoritmo OECD 423 (2001): Embora o protocolo recomende grupos de três animais (preferencialmente fêmeas), a interpretação dos dados obtidos com quatro machos é válida, desde que todos tenham sobrevivido à dose de 2000 mg/kg. Nessa condição, a resposta "0/4 mortes" equivale a uma situação de "0/3" ou "0/6"

mortes, que no algoritmo é interpretada como indicativo de baixa toxicidade. Segundo a classificação da OECD 423, essa resposta sugere que a substância pode ser enquadrada na Categoria 5 de toxicidade aguda. A definição final entre as classes 5 ou “sem classificação” depende da presença ou ausência de sinais clínicos observados nos animais após a administração.

## 5.2 AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E EFEITOS CLÍNICOS DOS EXTRATOS BRUTOS (EBS)

A investigação comportamental foi conduzida após a administração oral única das formulações (CBD, CBG e controle), com foco na avaliação de possíveis efeitos agudos sobre o sistema nervoso central (SNC) e sinais de alterações comportamentais induzidas por substâncias psicoativas (SPAs). Foram monitoradas reações espontâneas, reflexos neurológicos e responsividade a estímulos táteis e auditivos, utilizando protocolos padronizados para roedores.

No grupo controle (TCM), os animais mantiveram comportamento exploratório normal, sem sinais de sedação, agitação, alterações autonômicas ou comprometimento motor. A ausência de efeitos tóxicos ou depressores neste grupo valida o uso do DMSO como veículo seguro, conforme evidenciado na literatura (Galvão et al., 2021)

Nos animais tratados com CBG, observou-se um perfil bifásico caracterizado por leve estimulação locomotora nos primeiros 15 minutos, seguida de sedação progressiva nas horas subsequentes. Quatro animais apresentaram analgesia significativa, com ausência de resposta ao estímulo doloroso (pinçamento da cauda), e outros dois exibiram respostas atenuadas a estímulos auditivos. Apesar da hiporreflexia, os animais mantiveram comportamento calmo, atividade de vibrissas e *grooming ativo*, indicando preservação de parte da consciência e das funções autonômicas.

O grupo tratado com CBD também apresentou padrão bifásico, porém com intensidade mais acentuada. Após uma breve fase de estimulação inicial, observou-se uma sedação intensa e ptose palpebral grau 2 que persistiu por até 120 minutos. Todos os animais deste grupo demonstraram analgesia completa, acompanhada de redução moderada do tônus muscular no teste do bastão vertical. Apesar da sedação,

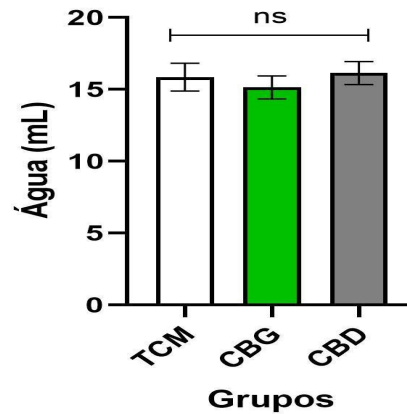
os reflexos posturais foram parcialmente preservados, o que indica uma ação depressora sem perda total de consciência.

Os dados obtidos reforçam o perfil farmacológico bifásico descrito para os fitocanabinoides, que consiste em uma estimulação leve seguida de depressão do SNC (Nachnani et al., 2021). A ausência de efeitos como pelos arrepiados, convulsões ou hipotermia sugere que os extratos utilizados apresentam segurança em dose única. A combinação de sinais como redução da atividade motora, ptose e hiporreflexia permite classificar o efeito como "sedação não anestésica", conforme critérios estabelecidos por Carlini et al. (1973).

Apesar dos achados positivos, o estudo apresenta limitações metodológicas que devem ser consideradas em investigações futuras. A ausência de testes instrumentais como o *rota-rod* para quantificação da coordenação motora, restringe a caracterização completa do perfil farmacodinâmico dos extratos. Assim, recomenda-se a inclusão desses parâmetros em futuros ensaios.

### 5.3 AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE ÁGUA

O consumo diário de água foi monitorado para detectar possíveis alterações fisiológicas após administração oral dos extratos de CBG e CBD em comparação ao grupo controle (TCM). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no consumo de água entre os grupos tratados e o controle. As médias permaneceram dentro da variação fisiológica esperada, sugerindo que a administração dos extratos não afetou a hidratação ou o balanço hídrico dos animais.( Figura 4).

**Figura 4 – Consumo médio diário e água por grupo (mL/dia)**

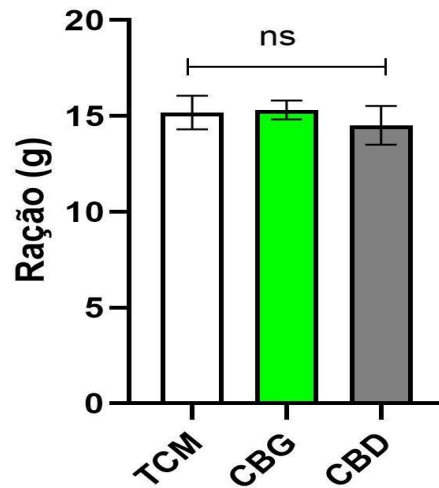
Fonte: O autor (2025).

Consumo médio diário de água (mL/dia) nos grupos TCM, CBG e CBD. Os dados estão expressos como média  $\pm$  erro padrão (EP). Não houve diferença estatística significativa entre os grupos avaliados (ANOVA,  $p > 0,05$ )

#### 5.4 AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE RAÇÃO

O consumo de ração pelos machos foi avaliado para identificar possíveis alterações no comportamento alimentar decorrentes da administração dos extratos. A análise estatística seguiu o mesmo protocolo, os resultados indicam ausência de diferenças significativas no consumo alimentar entre os grupos. Pequenas variações foram consideradas aleatórias e não associadas ao tratamento, indicando que os extratos orais de CBG e CBD não impactam negativamente o apetite ou comportamento alimentar nos machos. Figura 5

**Figura 5**– Consumo diário médio de ração (g/dia) dos grupos tratados



Fonte: O autor (2025).

Consumo diário médio de ração (g/dia) nos grupos TCM, CBG e CBD ao longo do experimento. Os dados são apresentados como média  $\pm$  EP. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os grupos (ANOVA,  $p > 0,05$ ).

### 5.5 AVALIAÇÃO PONDERAL

A avaliação do peso corporal final revelou diferenças estatisticamente significativas entre alguns grupos experimentais. O grupo tratado com canabigerol (CBG) apresentou peso significativamente menor que o grupo controle tratado com o veículo (TCM) ( $p = 0,0045$ ). Por outro lado, o grupo tratado com canabidiol (CBD) apresentou peso significativamente maior que o grupo CBG ( $p = 0,0001$ ). Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos TCM e CBD ( $p = 0,4492$ ).

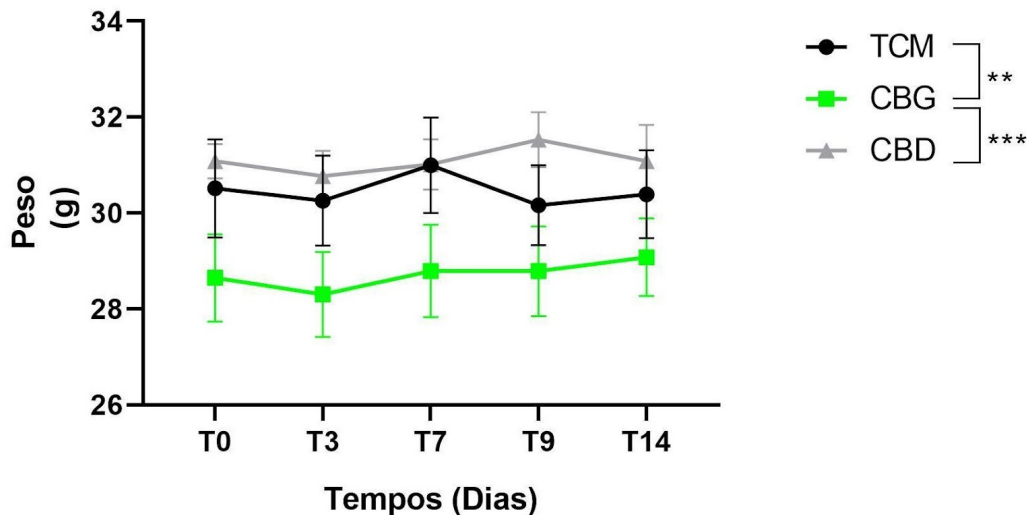
Esses resultados sugerem que o CBG pode exercer um leve efeito redutor sobre o ganho de peso corporal, ao passo que o CBD não apresentou impacto significativo em relação ao controle. A ausência de diferença entre TCM e CBD indica que o canabidiol, na dosagem e tempo de exposição utilizados, não altera substancialmente o metabolismo energético ou a deposição de massa corporal.

Por outro lado, a diferença marcada entre CBG e CBD aponta para efeitos metabólicos potencialmente distintos entre esses dois fitocanabinoides. O CBG pode estar relacionado a mecanismos de ação que envolvem a regulação do apetite, atividade termogênica ou estímulo da oxidação de ácidos graxos, o que pode justificar seu efeito na

redução ponderal.

A Figura 6 ilustra os valores médios de peso corporal final entre os três grupos experimentais, com respectivos erros padrão da média ( $\pm$  SEM). A Tabela 1 apresenta os resultados completos do teste de comparações múltiplas de Tukey, incluindo as diferenças médias, intervalos de confiança, significância e valores de p ajustados.

**Figura 6** - Peso corporal final médio dos grupos experimentais.



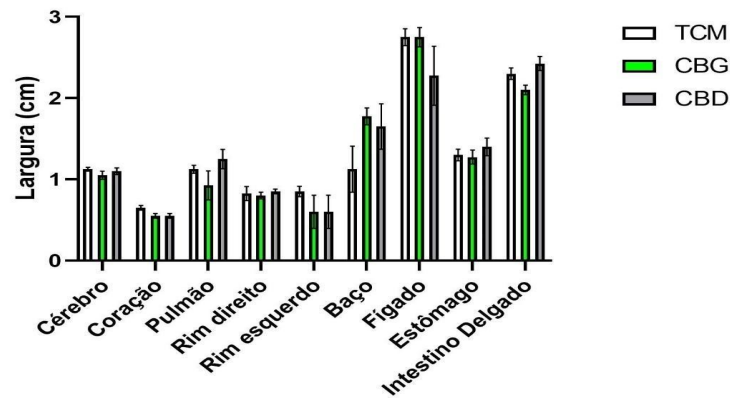
Fonte: O autor (2025).

Evolução do peso corporal (g) dos grupos TCM, CBG e CBD durante 14 dias. Dados expressos como média  $\pm$  EP. Diferenças significativas:  $p < 0,01$  (TCM vs. CBG; \*\*),  $p < 0,001$  (CBG vs. CBD; \*\*\*), ANOVA seguida de teste de Tukey.

## 5.6 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DOS ÓRGÃOS

Após 14 dias de observação, os animais sobreviventes foram submetidos à eutanásia para avaliação anatomopatológica dos principais órgãos. As dimensões de largura e altura dos órgãos foram mensuradas e comparadas entre os grupos tratados com CBG, CBD e TMC (controle). As médias de largura dos órgãos estão representadas na Figura 5, enquanto as médias de altura estão dispostas na Figura 7.

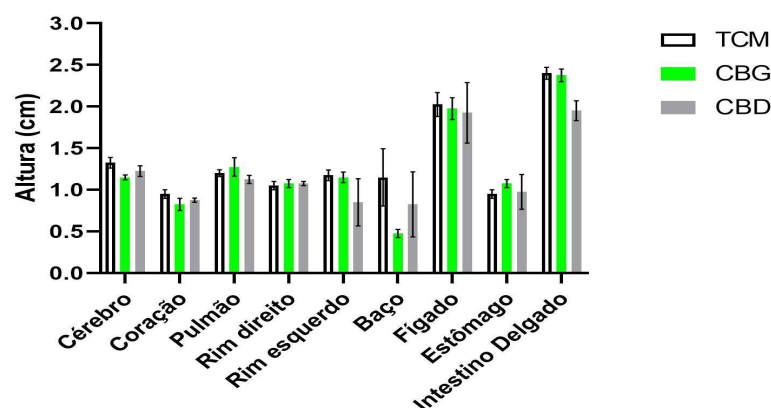
**Figura 7** Médias de largura (cm) dos órgãos (cérebro, coração, pulmão, rins, baço, fígado, estômago e intestino delgado) de animais tratados com TCM (controle), CBG e CBD após 14 dias.



Fonte: O autor (2025).

Os valores representam média  $\pm$  erro padrão ( $n = 4$  por grupo). Observa-se diferença significativa apenas na largura do baço entre TMC e CBG ( $p < 0,05$ ).

**Figura 8** – Médias de altura (cm) dos órgãos (cérebro, coração, pulmão, rins, baço, fígado, estômago e intestino delgado) de animais tratados com TMC (controle), CBG e CBD após 14 dias.



Os valores representam média  $\pm$  erro padrão ( $n = 4$  por grupo). Nenhuma diferença estatística significativa foi observada entre os grupos ( $p > 0,05$ ).

Conforme demonstrado na Figura 7, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na largura da maioria dos órgãos entre os grupos avaliados ( $p > 0,05$ ), com exceção do baço. Neste órgão, o grupo tratado com CBG apresentou uma redução significativa da largura em comparação ao grupo controle TCM ( $p = 0,0077$ ), sugerindo um possível efeito específico do canabinoide sobre o tecido esplênico. As demais comparações entre os grupos CBG e CBD ou TMC e CBD não apresentaram significância estatística.

Já a Figura 8, que apresenta os valores de altura dos órgãos, reforça a ausência de diferenças morfométricas relevantes entre os tratamentos. Embora algumas variações visuais sejam perceptíveis, como nos casos do fígado e intestino delgado, os dados estatísticos indicam que essas diferenças não são estatisticamente significativas ( $p > 0,05$  em todas as comparações). Isso confirma um perfil de segurança morfológica dos compostos testados quanto à altura dos órgãos analisados.

Além disso, uma comparação global das médias de largura entre os três grupos experimentais também não demonstrou diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,88$ ), corroborando os dados individuais e evidenciando que, de maneira geral, CBG e CBD não induzem alterações anatômicas relevantes em tecidos de órgãos vitais, com exceção do baço.

#### 5.6.1 Análise dos Pesos dos Órgãos

A Tabela 5 e figura 9 apresenta os valores médios de peso (em gramas) obtidos para cada órgão em cada grupo experimental.

Verificou-se que os animais tratados com CBD apresentaram pesos médios mais elevados em praticamente todos os órgãos, com destaque para fígado, rins, intestino delgado, cérebro e testículos. Por outro lado, os animais tratados com CBG apresentaram pesos intermediários, geralmente próximos ao grupo controle (TMC), exceto por elevação pontual no estômago e intestino delgado.

O grupo controle (TMC) exibiu, de maneira geral, os menores valores médios de peso, como esperado para animais não expostos a substâncias bioativas. A diferença mais marcante foi observada nos testículos e intestino delgado, com valores visivelmente superiores no grupo CBD.

Embora os valores apontem para uma possível ação sistêmica do CBD na modulação da massa dos órgãos, não foi observada significância estatística ( $p > 0,05$ ) nas comparações feitas com base nos dados fornecidos, exceto nos casos relatados previamente para largura do baço. Ainda assim, tais alterações de peso justificam investigações complementares em nível histológico e funcional.

No grupo controle, a observação de acúmulo de gordura abdominal em um dos camundongos pode ser considerada um achado basal, possivelmente relacionado a fatores metabólicos normais ou variações individuais. Este achado serve como referência para comparação com os grupos tratados.

Nos camundongos tratados com CBG (Grupo 2), a presença de protuberâncias semelhantes a tumores no fígado (em pelo menos dois indivíduos) sugere um possível efeito adverso do composto sobre órgãos hepáticos. Esses nódulos podem indicar processos proliferativos ou inflamatórios que merecem investigação histológica mais detalhada. Além disso, a redução no tamanho testicular observada em um camundongo aponta para possíveis efeitos reprodutivos ou endócrinos do CBG, indicando que este composto pode interferir no sistema reprodutor masculino. A alteração nos dados de um animal que ficou horas sem ser pesado e permaneceu na formalina ressalta a importância do rigor no manejo dos animais para evitar vieses nos resultados.

Já no grupo tratado com CBD (Grupo 3), a presença de um único rim em um animal sugere uma alteração congênita ou induzida, que pode ter impacto significativo na função renal e na saúde geral do animal. A redução do tamanho do baço, observada em outro indivíduo, indica uma possível implicação imunológica associada ao tratamento com CBD, uma vez que o baço é órgão fundamental para a resposta imune. Essa alteração pode refletir efeitos imunossupressores ou moduladores do CBD.

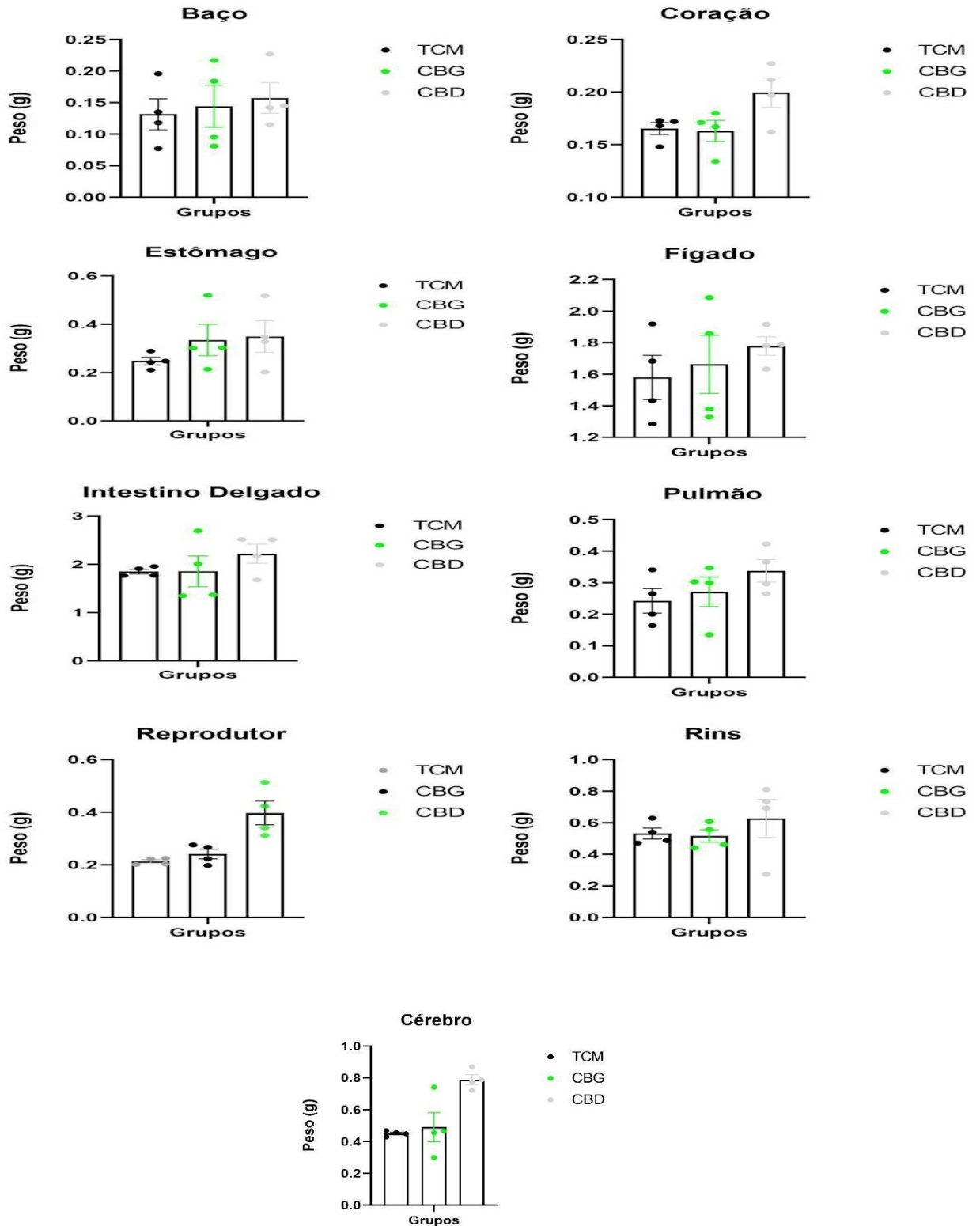
Esses achados apontam para efeitos diferenciais e potenciais toxicidades associadas ao uso de CBG e CBD, especialmente em órgãos como fígado, rins, testículos e baço. Recomenda-se a realização de análises histopatológicas e bioquímicas complementares para melhor caracterização dos mecanismos envolvidos e confirmação das alterações observadas

**Tabela 5 –** Peso médio dos órgãos (g) aos grupos experimentais.

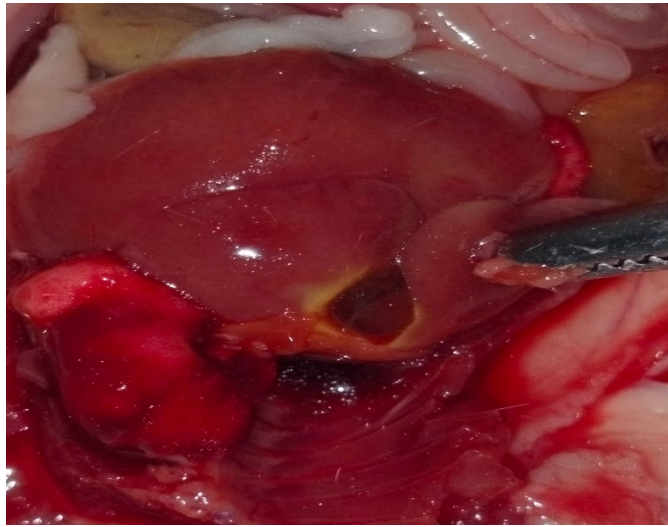
<b>Órgão</b>	<b>TMC (g)</b>	<b>CBG (g)</b>	<b>CBD (g)</b>
Cérebro	0,451	0,491	0,789
Coração	0,165	0,163	0,200
Pulmão	0,268	0,271	0,338
Rins (total)	0,532	0,517	0,628
Baço	0,131	0,144	0,157
Fígado	1,580	1,663	1,779
Estômago	0,248	0,335	0,349
Intestino Delgado	1,850	1,855	2,218
Testículos (total)	0,214	0,241	0,398

Fonte: O autor (2025).

**Figura 9** – Representación visual dos pesos médios dos órgãos avaliados (baço, coração, estômago, fígado, intestino delgado, pulmão, reprodutor e rins) nos diferentes grupos experimentais (TCM, CBG e CBD) após 14 dias de tratamento.



**Figura 10** – Protuberância tumoral no fígado de camundongo tratado com CBG  
(Grupo 2 – Camundongo nº 2)



**Figura 11**– Protuberância tumoral no fígado de camundongo tratado com CBG  
(Grupo 2 – Camundongo nº 4)



## 6 CONCLUSÃO

A análise cromatográfica revelou que o extrato de *Cannabis sativa* L. é composto principalmente pelos canabinoides não psicoativos cannabidiol (CBD) e canabigerol (CBG), com ausência de tetrahydrocannabinol (THC). Essa composição é significativa para a formulação de produtos com potencial terapêutico, mas que não apresentam efeitos psicoativos indesejados, o que amplia as possibilidades de uso clínico e farmacêutico. A escolha do veículo oleoso, óleo de triglicerídeos de cadeia média, mostrou-se adequada para a solubilização dos compostos e para a administração oral, mantendo a estabilidade das formulações.

Os efeitos observados em modelos animais indicam que tanto o CBD quanto o CBG são relativamente seguros em doses únicas, sem provocar toxicidade aguda evidente ou alterações comportamentais graves. No entanto, o CBG induziu uma redução significativa no peso corporal e diminuição da largura do baço, sugerindo um impacto metabólico e imunológico que merece maior investigação. A ausência desses efeitos no grupo tratado com CBD aponta para diferenças farmacológicas importantes entre esses canabinoides, o que reforça a necessidade de avaliar suas ações específicas, principalmente em tratamentos prolongados.

Por outro lado, o CBD apresentou uma tendência a provocar hipertrofia em órgãos como o baço e os rins, o que pode indicar reações adaptativas ou processos inflamatórios subjacentes. Embora essas alterações não tenham sido acompanhadas de toxicidade clínica evidente, a presença dessas alterações morfológicas sugere a importância de estudos histopatológicos detalhados para determinar o real impacto desses compostos sobre os tecidos e órgãos. Isso é fundamental para garantir a segurança dos produtos à base de CBD em uso terapêutico.

Em suma, os resultados indicam que, apesar da boa tolerabilidade inicial, os canabinoides isolados apresentam perfis de efeitos distintos que podem influenciar seu uso clínico. O CBG parece afetar negativamente parâmetros metabólicos e o sistema imunológico, enquanto o CBD pode estar associado a alterações nos órgãos excretores e linfóides. Esses achados reforçam a importância de avaliações mais profundas, incluindo estudos crônicos e análises moleculares, para compreender os mecanismos envolvidos e otimizar o uso seguro e eficaz desses compostos na medicina.

## REFERÊNCIAS

- ADHIKARY, D. *et al.* *Cannabis sativa*: Botany, phytochemistry, therapeutic uses, and pharmacology. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2021.
- ANDRE, C. M.; HAUSMAN, J. F.; GUERRIERO, G. *Cannabis sativa*: The plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science*, v. 7, p. 1–17, 2016.
- APPENDINO, G. *et al.* Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa*: A structure-activity study. *Journal of Natural Products*, v. 71, n. 8, p. 1427–1430, 2008.
- ARAUJO, D. S. O. Aspectos fitoquímicos da *Cannabis sativa* L.: Uma revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 19, n. 4, p. 521–530, 2017.
- BARON, E. P. *et al.* Medicinal properties of terpenes found in *Cannabis sativa*. *Cannabis and Cannabinoid Research*, v. 3, n. 1, p. 203–215, 2018.
- BARRETT, M. L. *et al.* Isolation from *Cannabis sativa* L. of cannflavin—a novel inhibitor of prostaglandin production. *Biochemical Pharmacology*, v. 34, n. 11, p. 2019–2024, 1985.
- BERMAN, P. *et al.* Cannabis phytomolecule 'entourage': Synergistic interaction between cannabinoids and terpenes. *Cannabis and Cannabinoid Research*, v. 3, n. 1, p. 1–10, 2018.
- BONN-MILLER, M. O. *et al.* Labeling accuracy of cannabidiol extracts sold online. *JAMA*, v. 318, n. 17, p. 1708–1709, 2019.
- BRAND, E.; ZHAO, Z. *Cannabis in Chinese medicine*: Are some traditional indications referenced in ancient literature related to cannabinoids? *Frontiers in Pharmacology*, v. 8, p. 1–6, 2017.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *RDC nº 26, de 13 de maio de 2014*. Dispõe sobre os requisitos para realização de estudos não clínicos de segurança necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Brasília: ANVISA, 2014.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *RDC nº 327, de 9 de dezembro de 2019*. Dispõe sobre os procedimentos para concessão de autorização sanitária para fabricação e importação de produtos derivados de cannabis. Brasília: ANVISA, 2019.

- GONTIÈS, W. *Cannabis medicinal e regulamentação no Brasil*. São Paulo: Unifesp, 2003.
- HAYES, A. W.; DiPASQUALE, L. *Principles and Methods of Toxicology*. 4. ed. New York: Raven Press, 2001.
- KÁTHIA, F. A. *et al.* Uso terapêutico de *Cannabis sativa* L. e sua regulamentação. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, v. 4, n. 1, p. 33–42, 2006.
- KLAASSEN, C. D. *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*. 7. ed. New York: McGraw-Hill, 2007.
- LAPA, A. J. *et al.* *Farmacologia e terapêutica para dentistas*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.
- OECD. *Guideline for Testing of Chemicals – Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method – Guideline 423*. Paris: OECD Publishing, 2001.
- OECD. *Guidelines for the Testing of Chemicals*. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development, 2018.
- OLIVEIRA, R. R. Cannabis medicinal e políticas públicas: uma análise ética e regulatória. *Revista Bioética*, v. 33, n. 1, p. 45–58, 2025.
- PAMPLONA, F. A. *et al.* The entourage effect of the phytocannabinoid-terpenoid interaction in *Cannabis sativa*. *British Journal of Pharmacology*, v. 175, n. 16, p. 320–334, 2018.
- PURCHASE, I. F. H. *et al.* Predictive value of animal toxicology studies for human safety. *Human & Experimental Toxicology*, v. 17, n. 2, p. 92–97, 1998.

## ANEXOS

ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO CEUA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA INTEGRAÇÃO LATINO-AMERICANA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO Nº 3/2025/CEUA (10.01.05.19.05)

Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO

Foz Do Iguaçu-PR, 15 de março de 2025.

## COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – UNILA

Certificamos que a proposta intitulada “Avaliação Toxicológica Não-Clínica in silico E in vivo Aguda De Um Extrato De Cannabis sativa RICO EM Canabidiol (CBD) e Canabigerol (CBG)” – 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 –, protocolada com o número 23422.001930/2025-81, sob a responsabilidade da docente **Micheline Freire Donato**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei no 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto no 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA). A proposta foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Integração Latinoamericana (UNILA), na reunião do dia 12 de fevereiro de 2025.

Vigência do projeto	Dezembro - 2024 / Junho - 2025
Espécie / Linhagem	Camundongo Swiss
Número de animais	30
Peso/Idade	18—22g / 30 dias
Sexo	M =14 / F=16
Origem	Biotério da Unioeste

*Documento não acessível publicamente*

*(Assinado digitalmente em 16/03/2025 15:52)*

FLAVIO LUIZ TAVARES

PROFESSOR(A) DO MAGISTÉRIO SUPERIOR

ILACVN (10.01.06.03.04)

Matrícula: ###558#5

**Processo Associado: 23422.001930/2025-81**

Visualize o documento original em <https://sig.unila.edu.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **3**, ano: **2025**, tipo: **CERTIFICADO**, data de emissão: **15/03/2025** e o código de verificação: **85683fdca8**

# CBD Isolate

Sample ID: THCA22021608-02  
Screen: CBD Isolate  
Matrix: Concentrates & Extracts

Received: 02/16/2022  
Completed: 02/21/2022  
Batch#



## Summary

Test	Date Tested	Method	Result
Batch			Complete
Cannabinoids	02/18/2022		Complete
Density			g per mL

## Cannabinoids

Complete

ND	97.596%	98.413%
Total THC	Total CBD	Total Cannabinoids
NT	Not Tested	Not Tested
Moisture	Water Activity	Foreign Matter

Analyte	LOQ	LOQ	Result	Result
THCa	0.25	0.00	ND	ND
Δ9-THC	0.25	0.00	ND	ND
Δ8-THC	0.25	0.00	ND	ND
THCV	0.25	0.00	ND	ND
CBDa	0.25	0.00	ND	ND
CBD	0.25	0.00	97.596	97.596
CBN	0.25	0.00	0.11	0.118
CBGa	0.25	0.00	ND	ND
CBG	0.25	0.00	ND	ND
CBC	0.25	0.00	ND	ND
Total CBD			97.596 mg/g	97.596%
Total THC			ND	ND
Total			98.413 mg/g	98.413%

Total THC = THCa \* 0.877 + Δ9-THC, Total CBD = CBDa \* 0.877 + CBD

LOQ = Limit of Quantitation. The reported result is based on a sample weight with the applicable moisture content for that sample. Unless otherwise stated all quality control samples performed within specifications established by the Laboratory. Test method: GC-01 - Cannabinoids by HPLC.



*Lori Katerick*

Lori Katerick  
Lab Director  
02/21/2022

*Kyle Nordatt*

Kyle Nordatt  
Lab Manager  
02/21/2022

Confident Cannabis  
All Rights Reserved  
support@confidentcannabis.com  
(866) 506-5066  
www.confidentcannabis.com



ND=Not Detected, NR=Not Reported, LOQ=Limit of Quantitation. Test method for moisture: GLT-02 - Determination of Percent Moisture. Test method for water activity: GLT-03 - Determination of Water Activity. This product has been tested by The Higher Commitment Analytical Lab using valid testing methodologies and a quality system as required by state law. All IQC samples were performed and met the prescribed acceptance criteria in 16 CFR section 17.20 (pursued to 16 CFR section 17.20a-11.3). Values reported herein only to the product tested. The Higher Commitment Analytical Lab makes no claims as to the efficacy, safety or other risks associated with any detected or non-detected levels of any cannabinoid or terpene. This report is reproduced except in full, without the written approval of The Higher Commitment Analytical Lab.

ND

Total Δ9-THC

99.8 %

CBG

99.8 %

Total Cannabinoids

Mo

# Cannabinoids by HPLC-PDA and/or GC-MS/MS

Analyte	LOD (%)	LOQ (%)	Result (%)	Result (mg/g)	mAU
CBC	0.0095	0.0284	ND	ND	
CBCA	0.0181	0.0543	ND	ND	1000
CBCV	0.006	0.018	ND	ND	
CBD	0.0081	0.0242	ND	ND	
CBDA	0.0043	0.013	ND	ND	
CBDV	0.0061	0.0182	ND	ND	750
CBDVA	0.0021	0.0063	ND	ND	
CBG	0.0057	0.0172	99.8	998	
CBGA	0.0049	0.0147	ND	ND	
CBL	0.0112	0.0335	ND	ND	500
CBLA	0.0124	0.0371	ND	ND	
CBN	0.0056	0.0169	ND	ND	
CBNA	0.006	0.0181	ND	ND	
CBT	0.018	0.054	ND	ND	250
Δ8-THC	0.0104	0.0312	ND	ND	
Δ9-THC	0.0076	0.0227	ND	ND	
Δ9-THCA	0.0084	0.0251	ND	ND	
Δ9-THCV	0.0069	0.0206	ND	ND	0
Δ9-THCVA	0.0062	0.0186	ND	ND	
Total Δ9-THC			ND	ND	
Total			99.8	998	2.5

ND = Not Detected; NT = Not Tested; LOD = Limit of Detection; LOQ = Limit of Quantitation; RL = Reporting Limit;