

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANA CLARA RODRIGUES FERREIRA DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE *Cannabis sativa* L.
UTILIZANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)
E ARRANJO DE DIODOS (DAD)

CURITIBA

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANA CLARA RODRIGUES FERREIRA DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE *Cannabis sativa* L.
UTILIZANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)
E ARRANJO DE DIODOS (DAD)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Agronomia da Universidade
Federal do Paraná como requisito à obtenção
do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Cícero Deschamps

CURITIBA

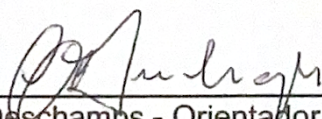
2024

TERMO DE APROVAÇÃO

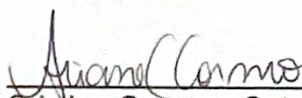
ANA CLARA RODRIGUES FERREIRA DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE *Cannabis sativa* L.
UTILIZANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)
E ARRANJO DE DIÓDOS (DAD)

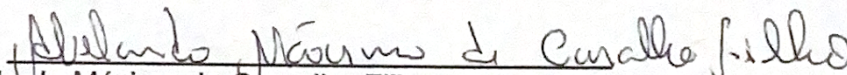
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná como requisito para a obtenção do título de Agrônoma, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Cícero Deschamps - Orientador. Setor de Ciências Agrárias,
Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade da Universidade Federal do Paraná,
UFPR.



Me. Ariane Cristina Cosmo - Setor de Ciências Agrárias, Departamento de
Fitotecnia e Fitossanidade da Universidade Federal do Paraná, UFPR.



Me. Abelardo Máximo de Carvalho Filho - Setor de Ciências Agrárias,
Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade da Universidade Federal do Paraná,
UFPR.

Curitiba, 05 de dezembro de 2024.

Dedico este trabalho a todas as pessoas que têm um sonho e que sempre lutaram por ele. Somente o conhecimento vai nos permitir romper as barreiras.

AGRADECIMENTO

À meus pais por desde criança me ensinarem a importância e o poder de transformação da educação.

Aos amigos que estiveram comigo ao longo dos anos na Universidade, o apoio e suporte de cada um de vocês foi extremamente importante para que eu pudesse chegar até aqui.

À Jacqueline, o amor que me permitiu nunca desistir dos meus sonhos e sempre esteve presente me apoiando e incentivando. Obrigada pela sua paciência e cuidado, você foi fundamental em tudo isso.

À Associação de Cannabis Medicinal Santa Cannabis por me permitir realizar esse trabalho, agradeço principalmente à Gabriela Kreffta, Luiz das Almas, Maurício Galléas e Raul Bevenutti por todo conhecimento, instrução e ensinamentos que pude ter com cada um de vocês, todo esse aprendizado foi fundamental.

Por fim, agradeço à Universidade Federal do Paraná por ser a base de todo meu conhecimento, agradeço a dedicação os professores, principalmente ao meu orientador Cicero Deschamps, o qual sempre foi presente e me instruiu, obrigada por me permitir realizar esse trabalho.

É necessário sempre acreditar que o sonho é possível

Que o céu é o limite e você, truta, é imbatível

Que o tempo ruim vai passar, é só uma fase

Que o sofrimento alimenta mais a sua coragem

Racionais MC's

RESUMO

A *Cannabis sativa* L., planta herbácea anual e dioica, é nativa do Leste da Ásia e possui uma longa história de uso medicinal, documentada desde 2700 a.C. na farmacopeia chinesa. É uma planta medicinal que atualmente possui uma grande variação de subespécies em função do seu processo de hibridização. A literatura traz relatos do seu uso medicinal e recreativo, em celebrações e rituais. Isso ocorre principalmente por possuir compostos únicos em sua composição química, sendo os principais compostos o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) e o Canabidiol (CBD). Devido à grande complexidade composicional da planta, terpenos, flavonoides, esteroides, compostos fenólicos, alcaloides e canabinoides, a caracterização total dos seus compostos individuais se torna muito difícil, limitando o seu potencial. Por isso se torna necessária a implementação de métodos de controle de qualidade dos fitoquímicos presentes na planta. Com o uso de métodos cromatográficos pode-se otimizar padrões qualitativos e quantitativos dos canabinoides. Dessa forma, o objetivo deste presente estudo foi de validar um método para a análise quantitativa e qualitativa de canabinoides em plantas de *Cannabis sativa* L., avaliando caracterização química de diferentes amostras. Inflorescências e extratos foram analisados utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e arranjo de diodos (DAD), revelando variações significativas na composição de canabinoides em variedades.

Palavras-chave: canabinoides; cromatografia; fitocompostos; métodos analíticos; plantas medicinais.

ABSTRACT

Cannabis sativa L., an annual, dioecious herbaceous plant native to East Asia, has a long history of medicinal use, with records dating back to 2700 BCE in Chinese pharmacopeia. It is a medicinal plant that now exhibits a wide range of subspecies due to extensive hybridization. The literature documents its use for both medicinal and recreational purposes, often in celebrations and rituals. This is largely attributed to its unique chemical composition, with the primary compounds being Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) and cannabidiol (CBD). Due to the plant's highly complex composition—which includes terpenes, flavonoids, steroids, phenolic compounds, alkaloids, and cannabinoids—the comprehensive characterization of its individual components remains challenging, limiting its potential applications. This underscores the need for quality control methods targeting its phytochemical constituents. Chromatographic methods can help optimize both qualitative and quantitative cannabinoid profiles. The present study aimed to validate a method for the quantitative and qualitative analysis of cannabinoids in *Cannabis sativa* L. plants by characterizing the chemical profiles of different samples. Inflorescences and extracts were analyzed using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) with a diode-array detector (DAD), revealing significant variations in cannabinoid composition among different varieties.

Keywords: cannabinoids; chromatography; phytochemicals; analytical methods; medicinal plants.

LISTA DE ABREVIATURAS

(CBC) – canabicromeno
(CBD) - canabidiol
(CBE) - canabielsoína
(CBG) - canabigerol
(CBL) - canabicitrol
(CBN) - canabinol
(CBND) - canabinodiol
(CBT) - canabitriol
(Δ^8 -THC) - Δ^8 -tetrahydrocannabinol
(Δ^9 -THC) - Δ^9 -tetrahydrocannabinol
CB1 - Receptor canabinoide do tipo 1
CB2 - Receptor canabinoide do tipo 2
CBCA - Ácido canabicromênico
CBDA - Ácido canabidiólico
CBGA - Ácido canabigerólico
CO₂ - Dióxido de carbono
Gpp - geranyl pirofosfato
Mep - metilerytritol fosfato
Oac - olivetol ácido ciclase
Ols - enzima olivetol sintase
PTFE - politetrafluoretileno
THCA - Ácido tetrahydrocannabinólico

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	17
FIGURA 2	19
FIGURA 3	19
FIGURA 4	19
FIGURA 5	19
FIGURA 6	23
FIGURA 7	27
FIGURA 8	29

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	24
TABELA 2	32
TABELA 3	33
TABELA 4	34
TABELA 5	35
TABELA 6	36
TABELA 7	36
TABELA 8	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 HISTÓRICO	15
2.1.1 Origem e disseminação	15
2.1.2 Proibição	16
2.2 <i>Cannabis sativa</i> L	16
2.2.1 Classificação taxonômica	16
2.3 BOTÂNICA	18
2.4 CONSTITUÍNTES QUÍMICOS	21
2.5 CANABINOIDES	21
2.5.1 Biossíntese de canabinoides	21
2.5.2 Classes de canabinoides	24
2.6 QUIMIOTIPOS	25
2.7 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 ORIGEM DAS AMOSTRAS	27
3.2 EXTRAÇÃO	28
3.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	29
3.3.1 Instrumentação	29
3.3.2 Processamento de dados	30
3.3.3 Materiais e reagentes	30
3.4 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	30
3.4.1 Solução amostra	30
3.4.2 Solução estoque	31
3.4.3 Solução referência 1	31
3.4.4 Solução referência 2	32
3.5 FASE MÓVEL	32
3.6 FASE ESTACIONÁRIA	33
3.7 VALIDAÇÃO DO MÉTODO	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5 CONCLUSÃO	39
6 REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

A *Cannabis sativa* L. é uma planta herbácea anual e dioica, pertence à família Canabaceae, nativa do Leste da Ásia (De Backer et al. 2009). Existem registros do seu uso que datam o século VIII na medicina árabe (Lozano, 2001). O primeiro registro medicinal está descrito na farmacopeia do Imperador chinês Shen-Nung em 2700 a.C., onde a planta era utilizada no tratamento da malária, de dores reumáticas, nos ciclos menstruais irregulares e dolorosos (Grosso, 2020). Acredita-se que no ano de 1549 a *Cannabis* foi introduzida no Brasil por meio de escravos africanos e a partir disso ocorreu a popularização no país (Carlini, 2006). Sua primeira proibição ocorreu em 1830 no Rio de Janeiro e a proibição total, incluindo exploração, colheita e plantio em todo território nacional, ocorreu em 1938 pelo Decreto-Lei nº 891 do Governo Federal (Fonseca, 1980).

Em 2015, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 3, atualizou a lista de substâncias de controle especial, prevista na Portaria SVS/MS nº 344/98, incluindo o canabidiol (CBD), definindo critérios para a importação de produtos à base de canabidiol para tratamento médico, mediante prescrição por profissional habilitado. No ano de 2017, a ANVISA incluiu a *Cannabis sativa* L. como planta medicinal na denominação comum brasileira, através da RDC nº 15613. Dois anos após, em 2019, a RDC nº 327 publicada pela ANVISA dispõe sobre os procedimentos para a concessão da autorização sanitária para a fabricação e a importação, e estabeleceu os requisitos para a comercialização, prescrição, dispensação, monitoramento e a fiscalização de produtos de *Cannabis* de uso humano para fins medicinais. Desde então, o uso da *Cannabis* tem sido considerado um dos assuntos mais controversos no Brasil devido ao grande tabu criado pelo uso recreativo da planta. Mesmo com a criminalização, pesquisas sobre o uso medicinal apresentam crescimento constante.

O perfil químico tem como função representar uma amostra quimicamente, caracterizando os principais compostos químicos e os de baixa concentração presentes na amostra (Alaerts et al., 2014). Os métodos cromatográficos são recomendados para o desenvolvimento do perfil químico de plantas em todo o mundo (Zhang et al., 2005; Tang, 2010; Alaerts et al., 2014).

A caracterização do perfil químico representa uma importante ferramenta para identificação de autenticidade, diferenciação de origem e avaliação da qualidade das plantas e seus compostos (Zhang et al., 2005; Deng e Yang, 2013).

Devido à complexidade dos canabinoides presentes na *Cannabis sativa* L., a caracterização completa de seus compostos individuais é extremamente desafiadora, limitando o potencial terapêutico dos óleos derivados. Assim, torna-se essencial implementar métodos de controle de qualidade que incluam análises detalhadas de seus compostos químicos e de suas funções. Com isso, espera-se que a análise quantitativa e qualitativa desses canabinoides, realizada por meio do método desenvolvido neste estudo, revele diferenças significativas em suas concentrações e composições, permitindo a validação do método.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi desenvolver e validar um método analítico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e Arranjo de Diodos (DAD) para a caracterização química de *Cannabis sativa* L., quantificando os principais canabinoides, classificando o quimiotipo das amostras.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

2.1.1 Origem e disseminação

Os primeiros registros datam cerca de 12.000 anos atrás na Ásia Central, inicialmente a planta era utilizada como fonte de fibras (Small e Marcus, 2002; Pain, 2015). Posteriormente, os chineses descobriram sua utilidade em decoração, produção de cordas e papéis (Zuardi, 2006; Balbino, 2014). Somente em 2700 a.C. ocorreu seu primeiro registro medicinal, sendo descrito na farmacopeia do Imperador chinês Shen-Nung, a planta era utilizada no tratamento da malária, de dores reumáticas, nos ciclos menstruais irregulares e dolorosos (Grosso, 2020). Esses ensinamentos foram transmitidos de maneira informal entre a população até ocorrer o registro descrito no livro de agricultura e plantas medicinais (Zuardi et al., 2011; Pain, 2015).

Em meados de 1.000 a.C. os hindus criaram uma bebida conhecida como “*bhang*”, composta por uma mistura de leite, *Cannabis* e outros ingredientes, sua função era anestésica e recreativa. Atualmente ainda faz parte da cultura indiana, e está associada a divindade *Lorde Shiva*.

Na Índia, a planta era utilizada com duas finalidades: uso religioso descrito no livro “*Atharvaveda*”, que considerava a *Cannabis* uma planta sagrada, dada de presente pelo Deus Shiva; e de maneira medicinal, utilizada para tratar sintomas de ansiedade, inflamação, convulsão e dor (Stella, 1973; Zuardi, 2006).

Outros registros de uso datam o século VIII na medicina árabe com uso para enxaquecas, dores e sífilis, sendo posteriormente empregada como droga psicoativa (Lozano, 2001). No Egito antigo existiam referências datadas de 1550 a.C. no papiro de Ebers com registros de mais 700 formulações médicas, sendo algumas com a *Cannabis* para tratamentos de dores, transtornos emocionais e no emprego do bem-estar (Kalant, 2001).

Acredita-se que em 500 d.C. foi introduzida na Europa Ocidental, utilizada para a produção de fibras (Pain, 2015). Em 1545 chegou na América do Sul, inicialmente no Chile para o cultivo de fibras; e em 1606 chegou a América do Norte levada por

colonos ingleses, seu registro na farmacopeia ocorreu somente em 1850 (Pain, 2015). No Brasil foi introduzida de forma simultânea ao seu descobrimento, escravos africanos transportados pelas caravelas portuguesas amarravam sementes em bonecas de pano, o que gerou o cultivo e disseminação das plantas pelos mesmos (Carlini, 2006; Balbino, 2014).

2.1.2 Proibição

A primeira proibição da *Cannabis*, chamada de Pito do Pango no período, ocorreu em 1830 no Rio de Janeiro, antes disso eram aplicados entre 100 à 400 açoites em escravos que fossem pegos portando. Em 1925 apenas o uso científico e médico era permitido. Além disto, era amplamente divulgado a sentença “É proibida a venda e o uso do pito do pango, bem como a conservação em casas públicas. Os contraventores serão multados e os escravos e demais pessoas, que dele usarem, em três dias de cadeia.” (Mott in Henman e Pessoa Jr., 1986).

Na década de 1930 foram intensificadas medidas de repressão ao uso, e em 1938 a proibição total, incluindo exploração, colheita e plantio em todo território nacional, pelo Decreto-Lei nº 891 do Governo Federal (Fonseca, 1980; Carlini, 2006; Balbino, 2014).

2.2 CANNABIS SATIVA L.

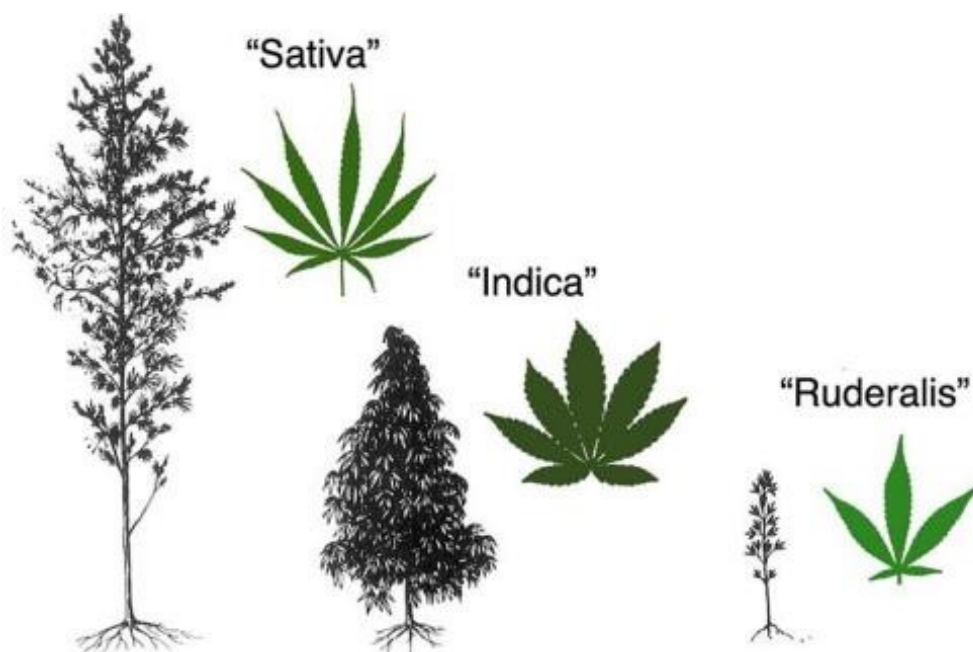
2.2.1 Classificação taxonômica

A taxonomia do gênero *Cannabis* promoveu diversos debates desde 1753, classificada pela primeira vez pelo botânico sueco Carls Linnaeus (Small e Cronquist, 1976; UNODC, 2009; Small, 2015). As maiores dúvidas eram entre uma classificação monoespecífica ou poliespecífica, inicialmente o gênero *Cannabis* foi dividido em três espécies principais, *Cannabis sativa*, *indica* e *ruderalis* (Schultes et. al. 1974). O cruzamento contínuo dessas espécies para gerar híbridos levou ao uso de uma classificação monotípica, na qual todas as plantas são classificadas como pertencentes à espécie *C. sativa* e são consideradas subespécies (Sawler et al., 2015). A intensa seleção artificial e hibridação das espécies tornou a distinção do gênero extremamente difícil, adotando a *Cannabis sativa* L. genericamente como

única espécie, abrangendo todas essas variações. Em casos de necessidade de especificar o tipo da variedade, utiliza-se o termo “cânhamo” ou “*hemp*” a maconha sem potencial psicoativo, com teor de THC abaixo de 0.3% (Small, 2015).

Através de testes de semelhança genética, por meio de *DNA barcoding*, John McPartland (2018) realizou uma ampla comparação entre as divisões populares e taxonômicas. O evento "*Cannabis Cup*" de 1999, comprovou a similaridade quando um dos híbridos venceu o prêmio de melhor genética na modalidade "*Sativa*", e quatro anos depois o mesmo híbrido venceu como melhor genética na modalidade "*Indica*". De acordo com a classificação popular (Figura 1) a variação "*Sativa*" possui folíolos estreitos, hábito de crescimento alto e maturação das flores tardia; a variação "*Indica*" possui folíolos largos, hábito de crescimento compacto, com um adensamento e maturação das flores precoce; e a "*Ruderalis*" são plantas mais baixas, não ramificadas e com folíolo largo. Outra característica interessante observada nas variedades popularmente consideradas "*Ruderalis*" é a baixa presença de THC. Essas divisões feitas popularmente passam a ser incorretas, pelo fato de haver muitos cruzamentos entre as diversas variedades, dificultando no encontro de uma planta somente com as características originais de uma dessas classificações (Mcpartland, 2018).

Figura 1 - Representações das divisões populares de *Cannabis sativa* L.



Fonte: Mcpartland, 2018.

De acordo com o United States Department of Agriculture (2016), a classificação taxonômica da *Cannabis sativa* L. é a seguinte: no reino Plantae, pertence ao subreino Tracheobionta (plantas vasculares) e à subdivisão Spermatophyta (plantas com sementes). Na divisão Magnoliophyta (plantas com flores), encontra-se na classe Magnoliopsida (dicotiledônea) e na subclasse Hamamelididae. A ordem é Urticales, com a família Cannabaceae, e o gênero é *Cannabis* L., a espécie é *Cannabis sativa* L., e suas subespécies incluem *sativa*, *indica*, *ruderalis* e *spontanea*.

2.3 BOTÂNICA

A *Cannabis* é uma planta herbácea anual e dicotiledônea, geralmente é dioica, apresentando plantas fêmea (Figura 2 e 3) e macho separadas, embora o hermafroditismo ocorra em algumas cultivares, pertence à família Canabaceae que é nativa do Leste da Ásia (De Backer et al. 2009). A identificação do sexo ocorre após o período vegetativo, tornando-se clara apenas no período floração. As hastes eretas variam de vinte centímetros a seis metros de altura, com média entre um até três metros (UNODC, 2009; Amaducci et al., 2015; Gloss, 2015). Possuem folhas palmadas e de formato serrilhado possuindo de cinco até sete folíolos linearlanceolados de ramificação oposta ou alternada, os folíolos possuem de seis até onze centímetros de comprimento e de dois a quinze milímetros de largura. A superfície das folhas é recoberta de tricomas resinosos (Frag e Kayser, 2017). As inflorescências masculinas consistem em cinco sépalas e cinco estames, não possuindo pétalas e crescendo em panículas axilares ou terminais. As inflorescências femininas consistem em único ovulo e um perianto conectado. A semente (fruto) (Figura 4) é um aquênio com uma única semente, seu comprimento varia de dois até cinco milímetros (Frag e Kayser, 2017).

Figura 2

Flor feminina pistilada
(estigmas, estilete, bráctea
perigonal e estípula)

**Figura 3**

Parte de flor feminina e antera

**Figura 4**

Semente madura



Fonte: Farag e Kayser, 2017.

Figura 5 – Cannabis sativa fêmea. A esquerda, planta fêmea em florescimento; a direita plantas fêmea em fase vegetativa.



Fonte: a autora, 2024.

O ciclo de desenvolvimento da *Cannabis* é dividido em três fases, a primeira é a germinação e emergência; seguida da fase vegetativa e por fim a floração. A germinação é iniciada com a quebra de dormência da semente e desenvolvimento da radícula, ocorre ao colocar a semente em água e ambiente escuro. Em média esse processo varia de dois a sete dias em função de condições de temperatura e umidade (Lowe et al., 2021).

Durante a fase vegetativa, a planta passa por um crescimento com desenvolvimento de folhas e caules, estabelecendo sua estrutura firme. Essa fase pode variar de seis até doze semanas e exige alta intensidade luminosa sendo superior a doze horas diárias. Durante esse período a planta tem grande crescimento em comprimento, sendo necessária sua manutenção com podas que visam a quebra da dominância apical e o desenvolvimento de ramificações e brotações (Radwan et al., 2021).

A *Cannabis* é uma planta de dia curto com fotoperíodo crítico em torno de 14 horas (Amaducci et al., 2015; Salentijn et al., 2015). A floração tem duração de quatro a doze semanas, dependendo da variedade e das condições de manejo, normalmente essa fase se inicia quando a fase escura ultrapassa doze horas por dia (Elsohly, 2007; Hazekamp, 2007; UNODC, 2009; Salentijn et al., 2015). Dessa forma, fotoperíodo abaixo do valor crítico resulta em florescimento das plantas, enquanto acima as plantas permanecem em estado vegetativo. Mesmo que o sexo da planta seja determinado de acordo com a genética, fatores ambientais e de manejo, como ciclo de luz podem alterar o sexo. No caso de plantas hermafroditas naturais, ocorre esterilidade, enquanto em plantas induzidas pode haver funcionamento total dos órgãos (Amaducci et al., 2015; Salentijn et al., 2015).

Ao final da fase de floração, as plantas são colhidas, e as flores passam por um processo de secagem e cura, que ajuda a preservar os canabinoides e terpenos. O processo de cura deve ocorrer em ambiente controlado, pois a exposição a temperaturas ou umidade extremas pode degradar compostos ativos. A secagem gradual e a cura adequada aumentam a qualidade dos canabinoides, potencializando o efeito terapêutico dos extratos e produtos derivados da planta (Radwan et al., 2021).

2.4 CONSTITUINTES QUÍMICOS

O químico israelense Raphael Mecholaum enquanto realizava estudos na The Hebrew University of Jerusalem em 1964, isolou e elucidou a estrutura do canabinoide Δ^9 -tetrahidrocanabinol (Δ^9 -THC) (Gaoni e Mecholaum, 1964; Mecholaum et al., 2014; Pain, 2015). Desde então ocorreram muitas pesquisas científicas em torno dos componentes ativos presentes na *Cannabis* e seus efeitos farmacológicos (Zuardi, 2006; Mecholaum et al., 2014).

Em 1990 estudos neurológicos permitiram entender o funcionamento dos receptores no cérebro. Estes receptores permitiram entender os efeitos psicoativos causados pelo Δ^9 -THC e foram nomeados de CB1 (Zuardi, 2006; Pertwee et al., 2010; Mecholaum et al., 2014). Em 1992 molécula N-araquidonil-etanolamina foi isolada e classificada com o nome de anandamida, e descrita como um canabinoide endógeno. Em 1993 foram identificados 39 receptores de canabinoides, e estes foram nomeados como receptores CB2 (Pertwee et al., 2010; Mecholaum et al., 2014; Pain, 2015).

Ao longo do tempo foram identificados diversos constituintes químicos da *Cannabis sativa* e estima-se que haja mais de 750 constituintes químicos, dentre as classes de canabinoides e não canabinoides, sendo estes terpenos, flavonoides, esteroides, compostos fenólicos, ácidos graxos, alcaloides, aminoácidos e estilibenos (Elsohly e Slade, 2005; Radwan et al., 2015; Lowe et al. 2021). Dentre todos os compostos, mais de 144 canabinoides já foram identificados, estando presente unicamente em plantas da *Cannabis sativa* (Elsohly e Slade, 2005; Hazekamp et al. 2014; Radwan et al., 2015).

2.5 CANABINOIDES

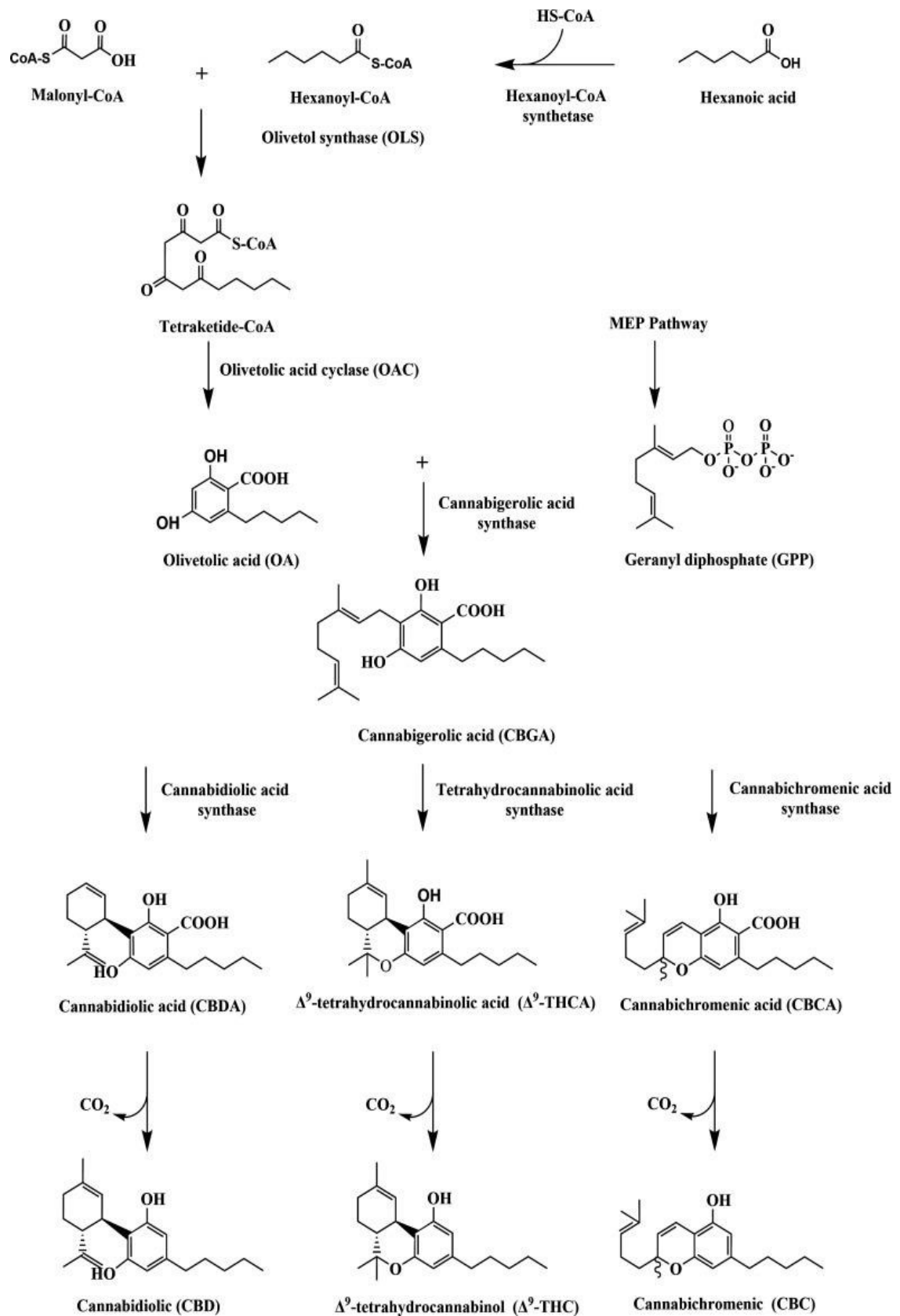
2.5.1 Biossíntese de canabinoides

O termo "canabinoides" refere-se a um grupo de compostos terpenofenólicos constituintes químicos encontrados em plantas de *Cannabis sativa* (Elsohly e Slade, 2005; Radwan et al., 2015). E os fitocanabinoides são metabólitos secundários pertencentes ao grupo de compostos terpenofenólicos,

com características como baixa solubilidade em água. Esses compostos são sintetizados pela *Cannabis* no interior dos tricomas glandulares (Small e Naraine, 2016).

A biossíntese (Figura 6) começa com a junção de malonil-CoA e hexanoil-CoA que por meio da enzima olivetol sintase (OLS) se combinam formando o ácido olivetólico (Ferllemeier, et. al., 2004; Gagne et al., 2012). Catalisado pela olivetol ácido ciclase (OAC) o ácido olivetólico é convertido na sua forma cíclica. Paralelamente, através da via metileritritol fosfato (MEP), a mesma responsável pela produção de terpenos e outros compostos isoprenoides, ocorre a síntese do geranyl pirofosfato (GPP) (Taura et al., 2007). O geranyl pirofosfato é combinado com o ácido olivetólico e catalisado pela enzima CBGA-sintase, formando o ácido canabigerólico (CBGA) (Morimoto et al., 1998). Através da THCA-sintase o CBGA é convertido em ácido tetrahydrocannabinólico (THCA) precursor do Tetrahydrocannabinol (THC). A CBDA-sintase converte CBGA em ácido canabidiólico (CBDA) precursor do Canabidiol (CBD). E a CBCA-sintase converte CBGA em ácido canabicromênico (CBCA), o precursor do canabicromeno (CBC). Por fim, os canabinoides nas formas ácidas são convertidos em formas neutras no processo de descarboxilação, o qual é ativado por calor ou exposição a luz que leva a perda de um grupo carboxila (CO_2) em sua estrutura. THCA é convertido em THC, CBDA é convertido em CBD e CBCA é convertido em CBC (Wang, et al., 2024).

Figura 6 - Biossíntese de canabinoides

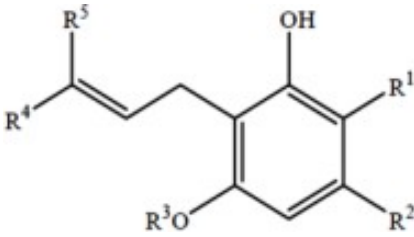
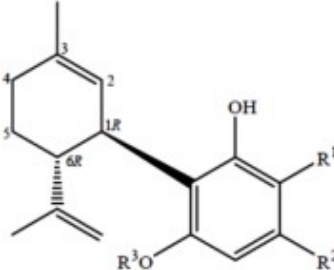
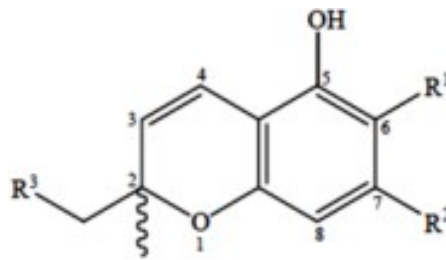
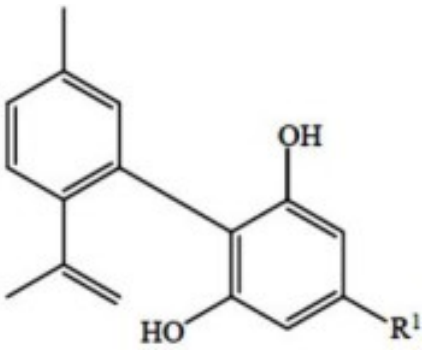


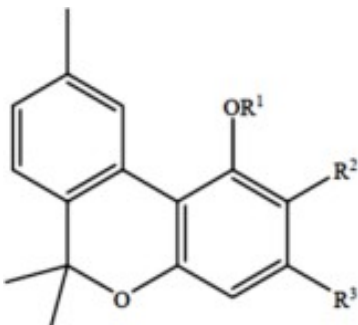
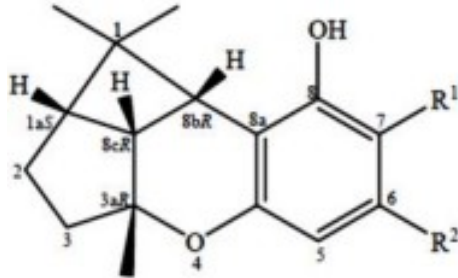
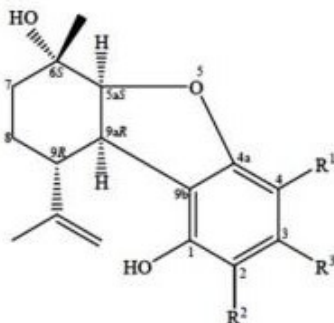
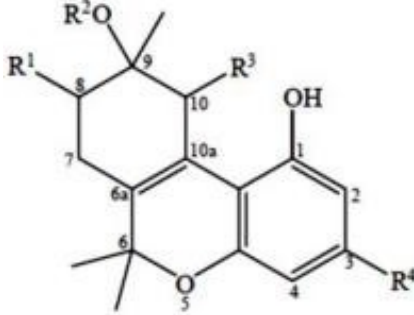
Fonte: Wang et al., 2024.

2.5.2 Classes de canabinoides

Os canabinoides são um grupo de compostos C₂₁ com uma estrutura terpenofenólica. São classificados de acordo com a estrutura química baseado nos principais grupos (Tabela 1): canabicromeno (CBC), canabidiol (CBD), canabielsoína (CBE), canabigerol (CBG), canabiciolol (CBL), canabinol (CBN), canabinodiol (CBND), canabitrilol (CBT), Δ^8 -tetrahydrocanabinol (Δ^8 -THC) e Δ^9 -tetrahydrocanabinol (Δ^9 -THC) (Radwan et al 2021).

Até o presente momento foram encontrados e classificados 25 canabinoides de Δ^9 -THC, cinco canabinoides de Δ^8 -THC, 16 canabinoides de CBG, dez canabinoides de CBD, dois canabinoides de CBND, cinco canabinoides de CBE, três canabinoides de CBL, nove canabinoides de de CBC, onze canabinoides de CBN, nove canabinoides de CBT e mais de 30 tipos de canabinoides diversos (Radwan et al 2021).

Tabela 1 - Estrutura básica dos canabinoides	
<p>Canabigerol (CBG)</p> 	<p>Canabidiol (CBD)</p> 
<p>Canabicromeno (CBC)</p> 	<p>Canabinodiol (CBND)</p> 

<p style="text-align: center;">Canabinol (CBN)</p> 	<p style="text-align: center;">Canabiciolol (CBL)</p> 
<p style="text-align: center;">Canabielsoin (CBE)</p> 	<p style="text-align: center;">Canabitriol (CBT)</p> 
<p style="text-align: center;">Δ^9-tetraidrocanabinol (Δ^9THC)</p>	

Essa abordagem quantitativa foi desenvolvida utilizando proporções THC/CBD como forma de classificar variedades de plantas: o quimiotipo I tem $\text{THC/CBD} > 1$, o quimiotipo II tem $\text{THC} = \text{CBD}$ e o quimiotipo III tem $\text{THC/CBD} < 1$ (de Meijer et al., 2003 ; Mandolino et al., 2003).

2.7 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A cromatografia é uma técnica de separação de componentes que ocorre em duas fases: estacionária e móvel, na primeira ocorrem diferentes interações entre os analitos, os separando (Lanças, 2009). Essa técnica foi desenvolvida por Mikhael Tswett no início do século XX, utilizando um tubo com carbonato de cálcio, ele realizou a separação de pigmentos coloridos (Carol, 2006; Lanças, 2009).

A fase estacionária é definida como parte fixa, e a fase móvel é o eluente. A fase estacionária possui em sua composição partículas sólidas acondicionadas dentro da coluna, onde sofrem atuação física pela fase móvel, fluindo de maneira constante. Os analitos de maior afinidade com a fase estacionária, se deslocam mais lentamente pela coluna, permanecendo um menor tempo na fase móvel. Na fase móvel é utilizado solventes, que variam conforme o grau de pureza, viscosidade, dissolução e polaridade. Os solventes mais comuns normalmente empregados são metanol, acetronila e álcool. A eluição dos compostos pode variar em função da composição da fase móvel (%B), sendo isocrática quando se apresenta constante e gradiente quando alternada durante a análise (Carol, 2006; Lanças, 2009).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) não afeta a estrutura dos canabinoides, pois nenhum calor é aplicado, o que permite a análise de canabinoides neutros e ácidos. No entanto, possui como desvantagem resolução insuficiente de toda a gama de canabinoides devido à composição complexa dos extratos de material vegetal (Radwan et al., 2017).

O arranjo de diodos (DAD) ajuda na melhora da especificidade dos canabinoides, pois canabinoides ácidos e neutros têm diferentes espectros de absorção (Aminah Jatoi et al., 2002; Leghissa et al., 2018). Dessa forma, o uso de HPLC-DAD se torna relevante para diferenciar entre os quimiotipos de *Cannabis sativa*, extratos de polaridade diferente e para perfilar extratos (Andreae et al., 2015).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ORIGEM DAS AMOSTRAS

As amostras foram fornecidas pela Associação Brasileira de Cannabis Medicinal - Santa Cannabis. As genéticas utilizadas pela Associação não podem ser divulgadas devido a confidencialidade solicitadas em contrato, sendo nesse estudo classificadas em plantas tipo A e tipo B. Foram utilizadas amostras de dez plantas, as inflorescências utilizadas foram colhidas entre nove e dez semanas após o início da floração. No processo de colheita foram utilizadas tesouras de poda e bandejas esterilizadas para armazenamento, posteriormente a sua colheita o material vegetal foi trimado, visando reduzir a quantidade galhos e folhas presentes na amostra.

As inflorescências foram separadas em variedades A e B e dispostas em redes suspensas (Figura 7) armazenadas em sala fechada com temperatura em torno de 22°C e umidade relativa do ar variando em 50% durante o período de uma semana.

Figura 7 – Inflorescência de *Cannabis sativa* L. Inflorescência A (rede esquerda) e inflorescência B (rede direita) dispostas em redes suspensas para secagem durante período de uma semana, em ambiente fechado e controlado, com temperatura de 22°C e umidade relativa do ar em torno de 50%.



Fonte: a autora, 2024.

3.2 EXTRAÇÃO

O processo de extração foi realizado no Laboratório da Associação Santa Cannabis, localizado em Itapoá - Santa Catarina. Após o período de secagem as amostras foram congeladas em refrigerador com temperatura de 0°C e posteriormente trituradas, visando sua homogeneização e aumento da superfície de contato até o momento da extração. Os métodos utilizados no processo de extração foram adaptados das patentes de Ferraro, 2019 e Castilla, 2020.

A amostra triturada foi imersa em etanol 99,8% e submetida ao aparelho extrator ((Figura 8 - a) durante 40 minutos, esse processo repetiu-se por duas vezes. A mistura da amostra triturada e etanol foi filtrada em um filtro de 120 micras com objetivo de reduzir a quantidade de cera presente e colocada em aparelho rotavapor com centrifuga constante de 50 rpm durante todo processo, a razão entre o solvente e o material vegetal não pode ser divulgada prezando a confidencialidade da empresa. Após a extração, o extrato é submetido à descarboxilação (Figura 8 - b) em temperatura de 100°C por uma hora para produção de THC, e a 120°C por três horas produção de CBD, resultando em um extrato *full spectrum* descarboxilado (Figura 8 – c), e por fim armazenado em um frasco de vidro âmbar (Figura 8 - d).

Figura 8 – a) Processo de extração após a imersão da matéria vegetal; b) O extrato sendo descarboxilado com auxílio do rotavapor; c) O extrato após a descarboxilação d) Extrato *full spectrum* pronto.



Fonte: a autora, 2024.

3.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.3.1 Instrumentação

As análises foram realizadas em laboratório parceiro, Dall Phytolab, localizado na cidade de Curitiba. O protocolo utilizado foi desenvolvido por de Souza (2022) e Moreno-Chamba (2024), com algumas adaptações de aplicação

aos materiais disponíveis no laboratório. A instrumentação para a análise contou com auxílio de equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência (HPCL) provido de detector ultravioleta a 220 nm, um aparelho Agilent série 1200 que é acoplado a um amostrador automático com temperatura controlada, bomba binária e arranjo de diodo. A separação foi obtida em uma coluna Poroshell 20 SB-C18, com 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com partículas de núcleo sólido revestidas por sílica ligada a um grupo octadecilsilano (2,6 μ m).

3.3.2 Processamento de dados

O processamento dos dados ocorreu através do software PAST (Paleontological Statistics) Software estatístico. A análise de agrupamento hierárquico foi realizada usando o método de Ward, um algoritmo de agrupamento aglomerativo com índice de distância euclidiana junto com análise de componentes principais (PCA). Todos os ensaios foram realizados por triplicata de forma independente ($n = 3$).

3.3.3 Materiais e reagentes

Os materiais de referência foram padrões analíticos de diversos canabinoides, como canabidiol (CBD), ácido canabidiólico (CBDA), ácido tetraidrocanabinólico (THCA), Δ^9 -tetraidrocanabinol (THC), Δ^8 -THC, canabigerol (CBG), ácido, canabinol (CBN), foram empregados na validação do método. Os reagentes utilizados são o metanol, acetonitrila, ácido tricloroacético e álcool isopropílico, hidróxido de amônio e água deionizada.

3.4 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

A preparação das soluções de amostra, estoque e de referência (1 e 2) seguiu o protocolo descrito por de Souza (2022) incluído na Farmacopeia da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

3.4.1 Solução amostra

Foi realizada separando-se 20 mg da amostra triturada e dessecada. Em seguida, a amostra foi colocada em um tubo de ensaio, e adicionados 4 mL de

metanol. A mistura é levada a um banho de ultrassom a 40 kHz durante dez minutos para extração dos compostos solúveis. Após a extração, a mistura é centrifugada a 3000 rpm por cinco minutos. O sobrenadante é transferido para um balão volumétrico âmbar, e o processo de extração é repetido para maximizar o rendimento. Na última etapa, o extrato é filtrado para remover resíduos de material vegetal, completando-se o volume final com metanol para obter uma concentração de 1 mg/mL. Esse extrato é filtrado novamente através de uma unidade de filtro PTFE de 0,45 µm e reservado para análise no HPLC. Para análises dos extratos desconsidera-se a realização das etapas acima.

3.4.2 Solução estoque

A solução estoque de canabinoides foi preparada dissolvendo 20 mg de canabidiol (CBD) em metanol. A substância foi transferida para um balão volumétrico de 2,0 mL, e então, o metanol foi adicionado até completar o volume. A mistura foi submetida a banho de ultrassom a 40 kHz por cerca de dez minutos para garantir a dissolução completa do padrão. Após a dissolução, a solução foi homogeneizada e filtrada com um filtro de PTFE com poros de 0,45 µm para remover qualquer impureza ou material sólido. A solução final foi transferida para um recipiente de vidro âmbar, vedada e armazenada em congelador até o momento da utilização, com uma concentração final de 10 mg/mL.

3.4.3 Solução referência 1

A partir da solução estoque, a solução de referência (1) foi preparada para estabelecer uma concentração padronizada para a análise. Para isso, 120 µL da solução estoque foram transferidos para um balão volumétrico de 20,0 mL. O volume foi então completado com metanol e a solução foi homogeneizada cuidadosamente. Após essa etapa, a solução passou por nova filtragem com um filtro de PTFE de 0,45 µm para garantir que estivesse livre de partículas antes da análise. A solução resultante apresenta uma concentração de 60 µg/mL de canabidiol, sendo então transferida para um vial de vidro âmbar para proteção contra a luz.

3.4.4 Solução referência 2

A solução de referência (2) foi preparada contendo uma mistura de vários canabinoides, cada um com concentração de 25 µg/mL em acetonitrila. Essa solução incluiu canabinoides ácidos e neutros como ácido canabidiólico (CBDA), ácido tetraidrocanabinólico (THCA), canabidiol (CBD), canabigerol (CBG), canabinol (CBN), Δ^9 -tetraidrocanabinol (Δ^9 -THC). Essa mistura é utilizada como referência múltipla, permitindo a comparação entre os picos observados no cromatograma das amostras e os tempos de retenção e espectros específicos de cada um desses canabinoides.

3.5 FASE MÓVEL

Sob condições de gradiente a 0,8 mL/min, as composições da fase móvel foram uma solução aquosa com ácido tricloroacético em uma proporção de 100:0,05 (eluente A), ajustada para pH 4,4 utilizando hidróxido de amônio e acetonitrila (eluente B).

Tabela 2 - Composição do eluente e tipo de eluição durante o gradiente de separação.

A tabela mostra a variação percentual dos eluentes A e B ao longo do tempo, com ajustes no gradiente linear e períodos de eluição isocrática. O gradiente linear descreve a mudança contínua nas concentrações dos eluentes, e a eluição isocrática mantém uma concentração fixa de cada eluente.

Tempo (minutos)	Eluente (A) (%)	Eluente (B) (%)	Eluição
0-15	44 → 39	56 → 61	Gradiente linear
15-19	39	61	Isocrática
19-23	39 → 25	61 → 75	Gradiente linear
23-30	25	75	Isocrática
30-31	25 → 44	75 → 56	Gradiente linear
31-35	44	56	Isocrática

Fonte: de Souza, 2022.

Após cada execução, realizou-se um reequilíbrio da coluna de cinco minutos. O volume de injeção foi de 5 µL e a quantificação foi realizada a 220 nm com padrões de canabinoides puros (Salazar-Bermeo et al., 2023).

3.6 FASE ESTACIONÁRIA

Os compostos da amostra interagem com a fase estacionária por diferentes períodos, dependendo de suas características de polaridade. Quanto maior a afinidade do composto pela fase estacionária, maior o tempo para ser eluído. Assim, compostos com menor afinidade pela fase estacionária, como os ácidos canabinoides, têm tempos de retenção menores em comparação com compostos como o Δ^9 -tetraidrocanabinol (THC), que possuem maior tempo de retenção devido à sua maior hidrofobicidade (Tabela 3).

Tabela 3 - Os tempos típicos de retenção dos canabinoides

Tempo de Retenção (min)	Composto
6,7	Ácido Canabidiólico (CBDA)
12,5	Ácido Tetraidrocanabinólico (THCA)
18,8	Canabidiol (CBD)
26,3	Δ^9 -Tetraidrocanabinol (THC)

Fonte: adaptação - de Souza, 2022.

3.7 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

A quantificação dos canabinoides é realizada comparando-se a área dos picos da amostra com a área do pico de canabidiol (CBD) na solução referência (1). Para compensar variações na resposta do detector para diferentes compostos, fatores de correção são aplicados para cada canabinoide. Esses fatores garantem que as diferenças de intensidade na resposta de absorção sejam adequadamente ajustadas, proporcionando maior precisão nos cálculos de concentração.

A expressão de cálculo para o teor percentual dos canabinoides leva em conta a área do pico de interesse na solução amostra, a área do pico correspondente ao canabidiol na solução referência (1), a concentração da solução referência e o fator de diluição da amostra.

$$T_a(\%) = \frac{A_a \times F_c \times C_p}{10 \times A_p}$$

T_a (%) = teor percentual do canabinoide de interesse na amostra (m/m);

A_a = área sob o pico de interesse na Solução amostra;

F_c = área sob o pico correspondente ao canabidiol na solução referência

(1); C^p = concentração da Solução referência (1), em $\mu\text{g/mL}$;

10 = fator de diluição, considerando a relação droga:extrato da solução amostra igual a 1 mg/mL; A_p = fator de correção correspondente a 1/Fator de Resposta Relativo (FRR)

Tabela 4 - Fator de correção dos canabinoides

Analito	Fator de correção (Fc)
Ácido canabidiólico	0,73
Ácido tetraidrocanabinólico	0,78
Canabidiol	1,00
Canabinol	0,60
Δ^9 -tetraidrocanabinol	1,04

Fonte: adaptação - de Souza, 2022.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos canabinoides presentes em inflorescências e extratos de *Cannabis* por HPLC/DAD destaca a capacidade dessa metodologia em separar, identificar e quantificar os principais compostos, além de diferenciar seus estados ácidos e neutros. Diversos estudos indicam que essa técnica oferece alta precisão e reprodutibilidade para a análise de amostras, se tornando essencial tanto para o controle de qualidade quanto para fins terapêuticos e regulatórios (Citti et al., 2018).

Nesse estudo, a análise por cromatografia líquida permitiu identificar proporções de canabinoides neutros como CBD, THC, CBN e CBG e canabinoides ácidos como CBDA e THCA. O uso do detector de arranjo de diodos (DAD) em conjunto da HPLC permitiu a identificação dos picos de absorção para cada composto e seus tempos em minutos (Leghissa et al., 2018).

A análise incluiu duas variedades de plantas, descritas neste trabalho como A e B, sendo fornecidos inflorescências e extrato destas. Nas tabelas 5, 6, 7 e 8 abaixo, seguem os resultados dos laudos das análises concluídas.

Tabela 5 – Planta A (Extrato de THC)

Resultados da determinação do teor de canabinoides por HPLC. Os valores obtidos para os principais canabinoides (CBD, CBDA, CBG, CBN, THC e THCA) e o total de canabinoides foram comparados com a especificação do cliente (60% de canabinoides totais). A análise foi realizada utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), conforme o protocolo operacional padrão (POP 401).

Ensaio	Quantidade de canabinoides analisados (%)	Resultado	Método
Determinação do Teor de Canabinoides por HPLC	60% de canabinoides totais	CBD: 0,27% CBDA: 0,18% CBG: 1,61% CBN: 0,77% THC: 55,13% THCA: 9,59% Total: 67,55%	HPLC (POP 401)

Fonte: Laboratório Dall Phytolab (2024).

Tabela 6 – Planta A (Inflorescência de THC)

Resultados da determinação do teor de canabinoides por HPLC. Os valores obtidos para os principais canabinoides (CBD, CBDA, CBG, CBN, THC e THCA) e o total de canabinoides foram comparados com a especificação do cliente (60% de canabinoides totais). A análise foi realizada utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), conforme o protocolo operacional padrão (POP 401).

Ensaio	Quantidade de canabinoides analisados (%)	Resultado	Método
Determinação do Teor de Canabinoides por HPLC	15% de canabinoides totais	CBD: 0,01% CBDA: 0,04% CBG: 0,08% CBN: 0,01% THC: 0,91 % THCA: 15,09% Total: 16,14%	HPLC (POP 401)

Fonte: Laboratório Dall Phytolab (2024).

Tabela 7 – Planta B (Extrato de CBD)

Resultados da determinação do teor de canabinoides por HPLC. Os valores obtidos para os principais canabinoides (CBD, CBDA, CBG, CBN, THC e THCA) e o total de canabinoides foram comparados com a especificação do cliente (60% de canabinoides totais). A análise foi realizada utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), conforme o protocolo operacional padrão (POP 401).

Ensaio	Quantidade de canabinoides analisados (%)	Resultado	Método
Determinação do Teor de Canabinoides por HPLC	60% de canabinoides totais	CBD: 65,13% CBDA: 0,29% THC: 3,70% CBG: 1,27% CBN: 0,04 % THCA: 0,06% Total: 70,49%	HPLC (POP 401)

Fonte: Laboratório Dall Phytolab (2024).

Tabela 8 – Planta B (Inflorescência de CBD)

Resultados da determinação do teor de canabinoides por HPLC. Os valores obtidos para os principais canabinoides (CBD, CBDA, CBG, CBN, THC e THCA) e o total de canabinoides foram comparados com a especificação do cliente (60% de canabinoides totais). A análise foi realizada utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), conforme o protocolo operacional padrão (POP 401).

Ensaio	Quantidade de canabinoides analisados (%)	Resultado	Método
Determinação do Teor de Canabinoides por HPLC	15% de canabinoides totais	CBD: 0,67% CBDA: 9,85% CBG: 0,03% CBN: não detectado THC: 0,06% THCA: 0,47% Total: 11,02%	HPLC (POP 401)

Fonte: Laboratório Dall Phytolab (2024).

Os resultados apresentados nas tabelas destacam diferenças significativas nos teores de canabinoides entre as inflorescências e os extratos das plantas analisadas, evidenciando a eficiência do processo de extração e descarboxilação. Na Planta A, o extrato apresentou um teor total de canabinoides de 67,55%, superando a especificação do cliente (60%) e sendo predominantemente composto por THC (55,13%), enquanto as inflorescências mostraram um total de 16,14%, com maior proporção de THCA (15,09%). De forma semelhante, na Planta B, o extrato também superou a especificação com 70,49%, dominado por CBD (65,13%), em contraste com as inflorescências, que registraram um total de 11,02%, sendo CBDA o composto majoritário (9,85%). Esses dados confirmam a conversão eficiente dos canabinoides ácidos em suas formas neutras durante o processo de extração, essencial para maximizar a atividade farmacológica dos produtos finais. Além disso, reforçam a importância do processamento para atingir padrões de qualidade exigidos, como destacado em estudos de Citti et al. (2018) e Leghissa et al. (2018).

Os laudos obtidos por análise no Laboratório Dall Phytolab indicam uma predominância de canabinoides em sua forma ácida nas inflorescências, enquanto nos extratos observa-se uma concentração maior de canabinoides neutros. Esse padrão é esperado, pois as formas ácidas, como THCA e CBDA, sofrem

descarboxilação durante o processo de extração, convertendo-se em THC e CBD, respectivamente, devido ao calor aplicado ou a outras condições do processo de extração. Esse processo de descarboxilação é essencial para liberar os efeitos terapêuticos das formas neutras dos canabinoides, que têm propriedades farmacológicas específicas. ElSohly et al., 2017; Citti et al., 2018 corroboram essa tendência, destacando que as formas ácidas predominam nas plantas frescas e são transformadas em suas versões neutras para otimizar o efeito medicinal dos produtos.

Os resultados da análise também permitiram classificar os quimiotipos das plantas avaliadas. A primeira planta analisada (A) revelou altos níveis de THCA e THC em comparação com CBDA e CBD, caracterizando-se como quimiotipo I, com predominância de THC. Esse quimiotipo é geralmente associado a efeitos psicoativos mais intensos, sendo amplamente utilizado em aplicações terapêuticas que exigem analgesia ou efeitos relaxantes (Leinen et al. 2023; Legare et al. 2022). Já a segunda planta (B) apresentou concentrações elevadas de CBDA e CBD em relação ao THCA e THC, identificando-se como quimiotipo III, caracterizado pela predominância de CBD. Este quimiotipo é particularmente valorizado para aplicações medicinais sem efeitos psicoativos, como em tratamentos para epilepsia e ansiedade, devido ao perfil anti-inflamatório e ansiolítico do CBD (Leinen et al. 2023; Legare et al. 2022; Moreno et al., 2020; Wang et al., 2020).

5 CONCLUSÃO

A técnica HPLC-DAD é comprovada ser adequada para a análise de inflorescências e extratos de *Cannabis sativa* L., permitindo a identificação e quantificação precisa de seus compostos fitoquímicos, como os canabinoides ácidos (CBDA e THCA) e canabinoides neutros (CBD, THC, CBG e CBN). Essa metodologia possibilita uma aplicação eficaz e segura dos produtos à base de cannabis, tornando-se um importante aliado no controle de qualidade dos insumos utilizados. Além disso, a técnica permitiu classificar as plantas de acordo com seus respectivos quimiotipos com base na proporção de canabinóides. Assim, a Variedade A, com maior predominância de THC e THCA em relação a CBD e CBDA, apresenta alto teor psicoativo, caracterizando-se como uma planta de quimiotipo I. Já a Variedade B, com maior concentração de CBD e CBDA em relação aos canabinoides psicoativos THC e THCA, é caracterizada como planta de quimiotipo III. Cada quimiotipo apresenta propriedades terapêuticas distintas, que podem ser utilizadas de maneira isolada ou combinada, conforme as necessidades do tratamento, aprimorando uma medicina personalizada e potencializando seus efeitos.

6. REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). **Resolução nº 03, de 26 de janeiro de 2015. da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998.** Diário Oficial da União. 2015; Seção 1.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). **Resolução nº 156, de 11 de agosto de 2006.** Diário Oficial da União. 2006; Seção 1.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). **Resolução nº 327, de 09 de dezembro de 2019.** Diário Oficial da União. 2019; Seção 1.

AIZPURUA-OLAIZOLA, O.; Soydaner, U.; Öztürk, E.; Schibano, D.; Simsir, Y.; Navarro, P. **Evolution of the cannabinoid and terpene content during the growth of Cannabis sativa plants from different chemotypes.** Journal of Natural Products. 2016.

AMADUCCI, S. et alii. **Key cultivation techniques for hemp in Europe and China.** Industrial Crops and Products, v. 68, p. 2-16, jul. 2015.

AMINAH, J.; et al. **Dronabinol versus megestrol acetate versus combination therapy for cancer-associated anorexia: a North Central Cancer Treatment Group study.** Journal of Clinical Oncology, v. 20, n. 2, p. 567–573, 2002.

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. 19, 2016.

ANDREAE, M. H.; CARTER, G. M.; SHAPARIN, N.; SUSLOV, K.; ELLIS, R. J.; WARE, M. A. et al. **Inhaled cannabis for chronic neuropathic pain: a meta-analysis of individual patient data.** Journal of Pain, v. 16, n. 12, p. 1221–1232, 2015.

BALBINO, M. A. **Estudo do comportamento eletroquímico do Δ^9 - tetraidrocanabinol derivatizado com Fast Blue B.** 2014. Tese (Doutorado em Química) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

BORILLE, B. T. **Caracterização química da planta Cannabis sativa L. a partir de sementes apreendidas pela Polícia Federal no estado do Rio Grande do Sul.** 2016. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

CARLINI, E. A. **A história da maconha no Brasil.** Jornal Brasileiro de Psiquiatria, v. 55, n. 4, p. 314–317, 2006.

CAROL, H. C., GILBERTO L. BRAGA E PIERINA S. BONATO. **Fundamentos de cromatografia.** Editora da Unicamp, 2006.

CARVALHO, V. M. et al.. **Quantificação de canabinoides em extratos medicinais de Cannabis por cromatografia líquida de alta eficiência.** Química Nova, v. 43, n. 1, p. 90–97, jan. 2020.

CASTILLO, J. **Active fraction from therapeutic cannabis plant extracts.** Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office. U.S. Patent, 2020.

CITTI, C. et al. **Pharmaceutical and biomedical analysis of cannabinoids: A critical review.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 147, p. 565-579, 5 de jan. 2018.

De BACKER, B. et al. **Innovative development and validation of an HPLC/DAD method for the qualitative and quantitative determination of major cannabinoids in cannabis plant material.** Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, v. 877, n. 32, p. 4115–4124, 2009.

DE MEIJER, E. P. M. et alii. **The Inheritance of Chemical Phenotype in Cannabis sativa L. Genetics,** v. 163, p. 335-346, jan. 2003.

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

ELSOHLY, M. A.; SLADE, D. **Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids.** Life Sciences, v. 78, n. 5, p. 539–548, 2005.

ELSOHLY, M. A.; et al. **Phytochemistry of Cannabis sativa L.** In: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, 2017, v. 103, p. 1-36.

FARAG, S.; KAYSER, O. **Cultivation and breeding of Cannabis sativa L. for preparation of standardized extracts for medicinal purposes.** Journal of Medicinal and Aromatic Plants World, p. 165–186, 2015.

FARAG, S.; KAYSER, O. The cannabis plant: Botanical aspects. In: **Handbook of cannabis and related pathologies.** Dortmund, Germany: Elsevier, 2017.

FATHORDOOBADY, F. et al. **Hemp (Cannabis sativa L.) extract: anti-microbial properties, methods of extraction, and potential Oral delivery.** Food Reviews International, 2019.

FELLERMEIER, M. et alii. **Prenylation of olivetolate by a hemp transferase yields cannabigerolic acid, the precursor of tetrahydrocannabinol.** FEBS Letters, v. 427, p. 283-285, 1998.

FERRARO, A.; EDWARDS, B.; AHRENS, T. **Biomass extraction and centrifugation systems and methods.** Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office. U.S. Patent No. 10,493,377, 2019.

FONSECA, G. A. **Maconha, a cocaína e o ópio em outros tempos.** Arquivos da Polícia Civil, v. 34, p. 133-145, 1980.

GAGNE, S. J. et alii. **Identification of olivetolic acid cyclase from Cannabis sativa reveals a unique catalytic route to plant polyketides.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 109, n. 31, p. 12811-12816, jul. 2012.

GALETTIS, P.; Williams, M.; Gordon, R.; Martin, J. H. **A Simple Isocratic HPLC Method for the Quantitation of 17 Cannabinoids.** Australian Journal of Chemistry, v. 74, n. 6, p. 453-462, 2021.

GLOSS, D. **An Overview of Products and Bias in Research.** Neurotherapeutics, v. 12, p. 731-734, 2015.

GROSSO, A. F. **Cannabis: de planta condenada pelo preconceito a uma das grandes opções terapêuticas do século.** Journal of Human Growth and Development, 2020.

HAPPYANA, N. et alii. **Analysis of cannabinoids in laser-microdissected trichomes of medicinal Cannabis sativa using LCMS and cryogenic NMR.** Phytochemistry, v. 87, p. 51-59, 2013.

HAMNER, K. C. et alii. **Photoperiodism and the Hormones As Factors In Floral Initiation And Development.** Botanical Gazette, v. 100, n. 2, p. 388-431, 1938.

HAZEKAMP, A. et al. **Evaluation of a Vaporizing Device (Volcano®) for the Pulmonary Administration of Tetrahydrocannabinol.** Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 95, n. 6, p. 1308-1317, jun. 2006.

HAZEKAMP, A. **Cannabis; extracting the medicine.** Thesis (Doctorate Degree). Universiteit Leiden, 2007.

HAZEKAMP, A. et alii. **The prevalence and incidence of medicinal cannabis on prescription in The Netherlands.** European Journal of Clinical Pharmacology, v. 69, p. 1575-1580, 2013.

HAZEKAMP, A.; Choi, Y. H.; Verpoorte, R. **Quantitative analysis of cannabinoids from Cannabis sativa using 1H-NMR.** Chemical and Pharmaceutical Bulletin, v. 52, n. 6, p. 718-721, 2014.

HILL, A. J. et alii. **Phytocannabinoids as novel therapeutic agents in CNS disorders.** Pharmacology & Therapeutics, v. 133, p. 79-97, 2012.

HILL, M. **Be clear about the real risks.** Nature, v. 525, p. 14, set. 2015. 224

HILLIG, K. W. **A chemotaxonomic analysis of terpenoid variation in Cannabis.** Biochemical Systematics and Ecology, v. 32, p. 875-891, 2004.

HILLIG, K. W. et alii. **A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in cannabis (cannabaceae)**. American Journal of Botany, v. 91, n. 6, p. 966-975, 2004
 Kalant H. **Medicinal use of cannabis: history and current status**. Pain Res Manag. 2001;6(2):80-91

KAZAKEVICH, Y. V.; Lobrutto, R.. **HPLC for Pharmaceutical Scientists**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2007.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia líquida moderna: HPLC/CLAE**. Editora Atomo, 2009. 382.

LEGARE, C. A.; RAUP-KONSAVAGE, W. M.; VRANA, K. E. **Therapeutic potential of cannabis, cannabidiol, and cannabinoid-based pharmaceuticals**. Pharmacology, v. 107, n. 3-4, p. 131–149, 2022.

LEGHISSA, A.; HILDENBRAND, Z. L.; SCHUG, K. A. **A review of methods for the chemical characterization of cannabis natural products**. *Journal of Separation Science*, v. 41, n. 1, p. 398–415, 2018.

LEGHISSA, A.; et al. **Detection of cannabinoids and cannabinoid metabolites using gas chromatography with vacuum ultraviolet spectroscopy**. *Separation Science Plus*, v. 1, n. 1, jan. 2018.

LEINEN, Z. J.; MOHAN, R.; PREMADASA, L. S.; ACHARYA, A.; MOHAN, M.; BYRAREDDY, S. N. **Therapeutic potential of cannabis: a comprehensive review of current and future applications**. *Biomedicines*, v. 11, n. 10, p. 2630, 2023

LOPEZ-OLMOS, C.; et al. **Comprehensive comparison of industrial cannabinoid extraction techniques: Evaluation of the most relevant patents and studies at pilot scale**. *Frontiers in Natural Products*, v. 1, 2022.

LOWE, H.; et al. **Non-Cannabinoid Metabolites of *Cannabis sativa* L. with Therapeutic Potential**. *Plants*, v. 10, n. 2, p. 400, 2021.

LOZANO, I. **The Therapeutic Use of Cannabis sativa (L.) in Arabic Medicine**. *Journal of Cannabis Therapeutics*, v. 1, n. 1, p. 63-70, 2001.

MADALENO, IM. **Plantas medicinais consumidas em Cochim, no século XVI e na atualidade**. *Bol Mus Para Emílio Goeldi Ciênc hum*. 2015;10:109-42
 MANDOLINO, G.; BAGATTA, M.; CARBONI, A.; RANALLI, P.; DE MEIJER, E. **Qualitative and quantitative aspects of the inheritance of chemical phenotype in cannabis**. *Journal of Industrial Hemp*, v. 8, n. 2, p. 481–490, 2003.

McPARTLAND, J. et alii. **Care and Feeding of the Endocannabinoid System: A Systematic Review of Potential Clinical Interventions that Upregulate the Endocannabinoid System**. *PLoS One*, v. 9, n. 3, p. 1-21, mar. 2014.

McPARTLAND, J. M. et alii. **Are cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabivarin negative modulators of the endocannabinoid system? A systematic review.** *British Journal of Pharmacology*, v. 172, p. 737-753, 2015.

MCPARTLAND, J. M. **Cannabis systematics at the levels of family, genus, and species.** *Cannabis and Cannabinoid Research*, v. 3, n. 1, p. 203–212, 2018.

MECHOLAUM, R. et alii. **Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors.** *Biochemical Pharmacology*, v. 50, n. 1, p. 83-90, 1995.

MECHOLAUM, R. et alii. **Early phytocannabinoid chemistry to endocannabinoids and beyond.** *Nature Reviews*, v. 15, p. 757-764, nov. 2014.

MEHMEDIC, Z. et alii. **Potency Trends of Δ^9 -THC and Other Cannabinoids in Confiscated Cannabis Preparations from 1993 to 2008.** *Journal of Forensic Sciences*, v. 55, n. 5, p. 1209-1217, 2010.

MONACO, L. C. et alii. **Efeito De Dias Longos No Crescimento E Florescimento De Cultivares De Café.** *Bragantia*, v. 37, n. 4, p. 25–32, 1978.

MORENO-CHAMBA, B.; SALAZAR-BERMEJO, J.; HOSSEINIAN, F.; MARTIN-BERMUDO, F.; AGUADO, M.; DE LA TORRE, R. et al. **Aromatic and cannabinoid profiles of cannabis inflorescences and seed oils: A comprehensive approach for variety characterization.** *Industrial Crops and Products*, v. 210, p. 118143, 2024.

MORIMOTO, S.; KOMATSU, K.; TAURA, F.; SHOYAMA, Y. **Enzymological evidence for cannabichromenic acid biosynthesis in *Cannabis sativa*: The involvement of cannabichromenic acid synthase.** *Phytochemistry*, v. 49, n. 6, p. 1525–1529, 1998.

ONOFRI, C. et alii. **Sequence heterogeneity of cannabidiolic- and tetrahydrocannabinolic acid-synthase in *Cannabis sativa* L. and its relationship with chemical phenotype.** *Phytochemistry*, v. 116, p. 57-68, 2015.

PAIN, S. **A potted history.** *Nature*, v. 525, p. 10-11, set. 2015.

PATEL, B.; WENE, D.; FAN, Z. **Qualitative and quantitative measurement of cannabinoids in cannabis using modified HPLC/DAD method.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 146, p. 15-23, 30 nov. 2017.

PERTWEE, R. G. et alii. **International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid Receptors and Their Ligands: Beyond CB1 and CB2.** *Pharmacological Reviews*, v. 62, p. 588-631, 2010.

Pisanti, S. et al. **Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications.** *Pharmacology & Therapeutics*, v. 175, p. 133-150, 2017.

POTTER, D. J. **The propagation, cultivation, and processing of cannabis as a plant.** In: *Marijuana and Medicine*. Humana Press, 2009.

POURSEYED LAZARJANI, M., TORRES, S., HOOKER, T. et al. **Methods for quantification of cannabinoids: a narrative review.** *J Cannabis Res* 2, 35 (2020).

RADWAN, M. M.; et al **Phytochemistry of Cannabis sativa L.** In: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Vol. 103, p. 1-36, 2017.

RADWAN, M. M.; CHANDRA, S.; GUL, S.; ELSOHLI, M. A. **Cannabinoids, phenolics, terpenes, and alkaloids of cannabis.** *Molecules*, v. 26, n. 9, p. 2774, 2021.

RADWAN, M. M.; WANAS, A. S.; CHANDRA, S.; ELSOHLI, M. A. **Cannabis sativa L. - Botany and Biotechnology.** Springer International Publishing AG, 2017.

ROCHA, S. B. F. **Potencial brasileiro para o cultivo de Cannabis sativa L. para uso medicinal e industrial.** Universidade Federal de Viçosa (UFV), 2020.

ROSS, S. A.; ELSOHLI, M. A. **The volatile oil composition of fresh and air-dried buds of Cannabis sativa.** *Journal of Natural Products*, v. 59, n. 1, p. 49–51, 1996.

RUSSO, E. B. **Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects.** *British Journal of Pharmacology*, v. 163, n. 7, p. 1344- 1364, 2011.

SALENTIJN, E. M. J.; Zhang, Q.; Amaducci, S. **New developments in fiber hemp (Cannabis sativa L.) breeding.** *Industrial Crops and Products*, v. 68, n. 4, set. 2014.

SALENTIJN, E. M. J.; PETIT, J.; TRINDADE, L. M. **The complex interactions between flowering behavior and fiber quality in hemp.** *Frontiers in Plant Science*, 2019.

SAWLER, J. et al. **The Genetic Structure of Marijuana and Hemp.** *PLoS ONE*, v. 10, n. 8, 2015.

QUEIROGA, A. H. F. **Uso de Cannabis de forma medicinal: conceitos e preconceitos na sociedade.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) — Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2022.

Schultes, R. E.; Klein, W. M.; Plowman, T.; Lockwood, T. E. **Cannabis: an example of taxonomic neglect.** Harvard University Botanical Museum Leaflets, 1974.

SMALL, E. **Evolution and Classification of Cannabis sativa (Marijuana, Hemp) in Relation to Human Utilization.** *Botanical Review*, v. 81, p. 189-294, 2015.

SMALL, E. et alii. **Hemp: A New Crop with New Uses for North America.** *Trends in New Crops and New Uses*, JANICK, Jules; WHIPKEY, Anna (eds.). Alexandria: ASHS Press, 2002.

SIRIKANTARAMAS, S.; et al. **The gene controlling THC biosynthesis: Molecular cloning and heterologous expression of THCA synthase from *Cannabis sativa*.** *Journal of Biological Chemistry*, v. 280, n. 11, p. 8746–8751, 2005.

STELLA J. O **Atharvaveda**. *Revista de História*. 1973

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.

TURNER, C. E.; ELSOHL, M. A.; CHENG, P. C.; LEWIS, G. **Constituents of *Cannabis sativa* L., XIV: Intrinsic problems in classifying cannabis based on a single cannabinoid analysis.** *Journal of Natural Products*, v. 42, n. 3, p. 481–490, 1979.

UNODC. **United Nations Office on Drugs and Crime. Recommended Methods for the Identification and Analysis of Cannabis and Cannabis Products.** MANUAL FOR USE BY NATIONAL DRUG ANALYSIS LABORATORIES. Nova York: United Nations Publication, Sales No. E.09.XI.15, 2009.

VAN BAKEL, H. et al. **The draft genome and transcriptome of *Cannabis sativa*.** *Genome Biology*, v. 12, n. 102, p. 2-17, 2011.

WANG, F.; ZANG, Z.; ZHAO, Q.; CAO, R.; SONG, X.; TANG, L. et al. **Advancement of research progress on synthesis mechanism of cannabidiol (CBD).** *ACS Synthetic Biology*, v. 13, n. 7, p. 2008–2018, 2024.

WEIBLEN, G. D. et al. **Gene duplication and divergence affecting drug content in *Cannabis sativa*.** *New Phytologist*, v. 208 p. 1241-1250, 2015.

Zuardi A. W. **History of cannabis as a medicine: a review.** *Braz J Psychiatry*. 2006

ZUARDI, A. W. **History of cannabis as a medicine: a review.** *Revista Brasileira de Psiquiatria*, v. 28, n. 2, p. 153-157, 2006.

ZUARDI, A. W. et alii. **Dependência 6Química. Prevenção, Tratamento e Políticas Públicas.** 1 ed. Editora Artmed: Porto Alegre, 2011.