

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexado em carreadores

Doutorando: Daniel Ribeiro Grijó

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Curty da Motta Lima

Co-orientador: Prof. Dr. José Eduardo Olivo

Maringá – PR – Brasil

Março de 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexado em carreadores

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PEQ) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), como requisito para obtenção do Grau de Doutor em Engenharia Química.

Maringá – PR – Brasil

Março de 2022

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

G857c

Grijó, Daniel Ribeiro

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexado em carreadores / Daniel Ribeiro Grijó. -- Maringá, PR, 2022.
152 f.: il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Curty da Motta Lima.

Coorientador: Prof. Dr. José Eduardo Olivo.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2022.

1. Maconha (Cannabis sativa L.). 2. Canabinóides. 3. Carvão ativado - Carreador. 4. Biodisponibilidade de fármacos. 5. Covid-19. I. Motta Lima, Oswaldo Curty da, orient. II. Olivo, José Eduardo, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia Química. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

CDD 23.ed. 616.8635

Márcia Regina Paiva de Brito - CRB-9/1267

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a versão final da Tese de Doutorado apresentada por Daniel Ribeiro Grijó perante a Comissão Julgadora do Curso de Doutorado em Engenharia Química em 24 de fevereiro de 2022.

COMISSÃO JULGADORA



Prof. Dr. Oswaldo Curty da Motta Lima
Orientador/Presidente



Prof. Dr. José Eduardo Olivo
Coorientador



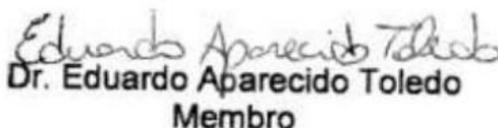
Prof. Dr. Cid Marcos Gonçalves Andrade
Membro



Prof. Dr. Vitor de Cinque Almeida
Membro



Dr. Rodrigo Barcellos Hoff
Membro



Dr. Eduardo Aparecido Toledo
Membro

“Então, a maconha começa a deixar de ser vista como a erva maldita...”

Dr. Elisaldo Carlini (1930-2020)



ENTREVISTA: *Pedaco da Vila (2014)*

IMAGEM: *setembro/2018, em XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Lúcio Cardozo Filho: por ter me aceito como aluno de doutorado do PEQ/UEM em março/2018, e ter sido meu orientador até outubro/2018;

Ao Prof. Dr. Oswaldo: por ter aceitado ser meu orientador a partir de outubro/2018, e ter me incentivado a continuar com minhas pesquisas;

Ao Prof. Dr. Vitor de Cinque Almeida e seu orientado Lucas Spessato de Souza (DQU/UEM): pela colaboração na produção e caracterização do carvão ativado;

Ao Prof. Dr. Olivo: por ter aceitado ser meu co-orientador a partir de junho/2019, facilitando assim acesso a equipamentos e reagentes para a pesquisa;

A Prof^a. Dr^a. Ciomar Aparecida Bersani Amado e sua orientada Edvalkia Magna Teobaldo da Rocha (Departamento de Farmacologia e Terapêutica, UEM): por terem aceitado a parceria científica para as análises de atividade anti-inflamatória *in vivo*;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq): pelo fornecimento da bolsa de estudos a partir de agosto/2019;

Aos que avaliaram a qualificação desse trabalho: Dra. Rute Maria Gonçalves Eires (Universidade do Minho de Portugal), Dr. Jairo Leonardo Cuervo Andrade (Universidad Nacional de Colombia), Dra. Marta Vázquez Mesa (Universidad de la República del Uruguay), Dr. Mateus Arduvino Reck, bem como ao Dr. Vitor Almeida e Dr. Cid Marcos;

A Prof^a. Dr^a Marta Vázquez Mesa: por disponibilizar seu laboratório e reagentes para análises realizadas no Uruguai que otimizaram métodos de identificação de *Cannabis*;

A Natália Leal da UNIFAM, Laboratório Analítico do Uruguai: por doar 10 μ L de diferentes padrões canabinóide para as análises de cromatografia de camada delgada;

Ao Laboratório de Imunoparasitologia de Doenças Negligenciadas e Câncer da Universidade Estadual de Londrina (LIDNC/UEL): pela colaboração em análises *in vitro*.

Ao Laboratório de Adsorção e Troca Iônica (LATI/DEQ/UEM): pela colaboração em análises de caracterização por Difractometria de Raio-X (DRX).

Ao Grupo de Estudo Multidisciplinar do Ambiente (GEMA/UEM): pela colaboração em análises de caracterização do tamanho das partículas do carvão ativado produzido.

Ao Prof. Dr. Flávio Augusto Vicente Seixas (UEM): por sua colaboração em análises *in silico* visando avaliar a atividade inibitória do canabidiol frente a COVID-19.

Ao Instituto de Pesquisa em Petróleo e Energia da Universidade Federal de Pernambuco (LITPEG/UFPE): pela colaboração em análises de caracterização.

Ao Laboratório de Planejamento e Síntese Aplicados à Química Medicinal (SINTMED/UFPE): pela colaboração em análises com fusiômetro.

Ao Dr. Rodrigo Hoff (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) e ao Dr. Eduardo Toledo (Polícia Federal), por terem aceitado avaliar essa tese.

De uma forma geral, a todos aqueles que também colaboraram com essa pesquisa.

Grijó, Daniel Ribeiro. **Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexado em carreadores**. Orientador: Oswaldo Curty da Motta Lima. Maringá: UEM / Pós-graduação em Engenharia Química, 2022. Tese de Doutorado.

RESUMO

Introdução – A ausência de efeitos colaterais significativos do canabidiol (CBD) o destaca entre os específicos bioativos medicinais da *Cannabis* (canabinóides), planta com potencial entorpecente restrita pelas Nações Unidas. As medicações que vem sendo desenvolvidas e comercializadas contendo este fármaco são comumente de via oral, porém, durante um tratamento, a biodisponibilidade do ativo pode ser comprometida devido sua baixa solubilidade aquosa. Dessa forma, muitos estudos avaliando sua complexação em carreadores inertes têm sido conduzidos. Recentemente, surgiu a expectativa de que o carvão ativado (CA) seja uma alternativa de carreador para fármacos com essa característica. A fibra de *Cannabis* é adequada para a produção deste material, bem como para o cultivo de fungos que pode ser utilizado como etapa preliminar para melhorar suas características. O cultivo de plantas do gênero com baixo teor psicotrópico é regulamentado em muitos países e é popularmente conhecido como cânhamo. **Objetivo** – Este trabalho teve como objetivo realizar diferentes caracterizações do CBD e avaliar seu aumento de biodisponibilidade quando complexado em carreadores. **Materiais e Métodos** – CBD não sintético foi inicialmente submetido a análises para aperfeiçoar testes rápidos de identificação de *Cannabis*. Nestes testes também foram utilizadas amostras de flores da planta e padrões puros de outros canabinóides. Técnicas de *Ressonância Magnética Nuclear Bidimensionais* (RMN-2D) foram aplicadas para confirmar características enantioméricas do CBD natural, sendo os dados de sua estrutura tridimensional utilizados para análises *in silico* de inibição do coronavírus 19 (COVID-19). Fibras de cânhamo foram submetidas ao cultivo de fungos e os diferentes materiais lignocelulósicos obtidos foram pirolisados com ativação via dióxido de carbono. Os poros e tamanhos de partículas do CA produzido foram caracterizados. CBD foi complexado no CA e em beta ciclodextrina (bCD), carreador amplamente difundido, sendo o procedimento comprovado por diversas técnicas físico-químicas. A quantificação do CBD nos complexos foi avaliada por *Cromatografia Líquida*. A biodisponibilidade do ativo puro e complexado foi avaliada *in vitro* e *in vivo*. As análises *in vitro* foram conduzidas com a linhagem celular HuH 7.5 (carcinoma hepatocelular) e o efeito citotóxico de tratamentos com concentrações entre 3,125 e 100 μM de CBD foi avaliado utilizando resazurina. A fluorescência foi aferida com um espectrômetro e foi utilizado cisplatina como fármaco de referência. As análises *in vivo* avaliaram a

atividade anti-inflamatória aguda via modelo de edema de pata em ratos e recrutamento da enzima mieloperoxidase (MPO). Os tratamentos com concentrações equivalentes a 8,75, 17,5 e 35 mg/kg foram avaliados, sendo o ibuprofeno o fármaco de referência. **Resultados e discussão** – O teste colorimétrico utilizou reagentes menos nocivos e a metodologia proporcionou menores chances de detectar falsos positivos. O teste de *Cromatografia de Camada Delgada* correlacionou satisfatoriamente os resultados com estimativas de propriedades dos canabinóides. As técnicas RMN-2D permitiram observar algumas características enantioméricas do CBD natural. As análises *in silico* comprovaram que o bioativo não inibi a principal protease da COVID-19. A composição centesimal e de metais pesados das fibras, bem como seu espectro infravermelho, foram coerentes à literatura, mas não foi possível comprovar se o material era derivado de *Cannabis* ou um “falso cânhamo”. O cultivo de fungos não gerou mudanças significativas na área superficial do carvão produzido. As análises de caracterização comprovaram a complexação do CBD aos carreadores, sendo 4,7 % m/m em CA e 22,9 % em bCD. As análises *in vitro* demonstraram que baixas doses de CBD foram suficientes para uma inibição comparável a da cisplatina. Os resultados foram melhores com o complexo bCD, mas indeterminados com CA. O percentual relativo de inibição do edema após quatro horas de sua indução foi 22, 23 e 47% para as doses de 8,75, 17,5 e 35 mg CBD/kg, respectivamente. Para essas mesmas doses complexadas em CA foi 26, 31 e 44% e em bCD 41, 43 e 61 %. Já para o IBU, IBU*CA e IBU*bCD, nas duas menores doses, 29, 41 %; 34, 36 %; e 30, 53 %, respectivamente, sendo o teor de IBU no complexo igual a 11,3 % em CA e 11,4 % em bCD. As doses de 35 mg/kg de IBU e IBU*bCD inibiram 52 e 51 %, respectivamente. Os resultados em doses únicas não demonstraram efeito inibitório significativo sobre a atividade da MPO. **Conclusões** – Os testes rápidos foram aperfeiçoados e características enantioméricas via RMN-2D foram elucidadas. O CBD natural puro demonstrou excelentes resultados nas análises antitumorais *in vitro* e anti-inflamatórias *in vivo*, sendo resultados ainda mais promissores obtidos a partir do seu complexo com bCD. Logo, estudos crônicos e clínicos são indicados para viabilizar o desenvolvimento de medicações orais com o canabinóide complexado neste carreador. Por outro lado, a complexação em CA não gerou vantagens o viabilizasse. Este apresentou características microporosas que não são adequadas para a complexação de fármacos. Além disso, serão necessários estudos mais aprofundados visando avaliar a atividade de diferentes canabinóides na prevenção da COVID-19.

Palavras-chave: canabidiol, cânhamo, caracterização, carreador, biodisponibilidade.

Grijó, Daniel Ribeiro. **Characterization of the non-synthetic cannabidiol pure and complexed in carriers**. Advisor: Oswaldo Curty da Motta Lima. Maringá: UEM / Post-graduate in Chemical Engineering, 2022. Qualification of the Doctorate in Chemical Engineering.

ABSTRACT

Introduction – The absence of significant side effects of cannabidiol (CBD) highlights it among the specific medicinal bioactives of *Cannabis* (cannabinoids), a plant with narcotic potential restricted by the United Nations. The medications that have been developed and marketed containing this drug are commonly taken orally, however, during treatment, the bioavailability of the active can be compromised due to its low aqueous solubility. Thus, many studies evaluating its complexation in inert carriers have been conducted. Recently, the expectation has arisen that activated charcoal (AC) is an alternative carrier for drugs with this characteristic. *Cannabis* fiber is suitable for producing this material, as well as for the cultivation of fungi that can be used as a preliminary step to improve its characteristics. The cultivation of plants of the genus with low psychotropic content is regulated in many countries and is popularly known as hemp. **Aim** – This study aimed to carry out different characterizations of CBD and evaluate its increased bioavailability when complexed in carriers. **Materials and Methods** – Non-synthetic CBD was initially subjected to analysis to improve rapid *Cannabis* identification tests. In these tests, flowers samples of the plant and pure standards of other cannabinoids were also used. *Two-dimensional Nuclear Magnetic Resonance* (2D-NMR) techniques were applied to confirm enantiomeric characteristics of natural CBD, with data from its three-dimensional structure used for *in silico* analysis of coronavirus 19 (COVID-19) inhibition. Hemp fibers were subjected to fungal cultivation and the different lignocellulosic materials obtained were pyrolyzed with activation via carbon dioxide. The pores and particle sizes of the AC produced were characterized. CBD was complexed in AC and in beta cyclodextrin (bCD), a widely spread carrier, being the procedure proven by several physicochemical techniques. The quantification of CBD in the complexes was evaluated by *Liquid Chromatography*. The bioavailability of the pure and complexed active was evaluated *in vitro* and *in vivo*. *In vitro* analyzes were conducted with the HuH 7.5 cell line (hepatocellular carcinoma) and the cytotoxic effect of treatments with concentrations between 3,125 and 100 μM of CBD was evaluated using resazurin. Fluorescence was measured with a spectrometer and cisplatin was used as a reference drug. *In vivo* analyzes evaluated the acute anti-inflammatory activity via a rat paw edema model and myeloperoxidase (MPO) enzyme

recruitment. Treatments with concentrations equivalent to 8.75, 17.5, and 35 mg/kg were evaluated, being ibuprofen the drug of reference. **Results and discussion** – The colorimetric test used less harmful reagents and the methodology provided lower chances of detecting false positives. The *Thin Layer Chromatography* test satisfactorily correlated the results with estimates of cannabinoid properties. The 2D-NMR techniques allowed the observation of some enantiomeric characteristics of natural CBD. *In silico* analyzes proved that the bioactive does not inhibit the main protease of COVID-19. The centesimal and heavy metal composition of the fibers, as well as their infrared spectrum, were consistent with the literature, but it was not possible to prove whether the material was derived from *Cannabis* or a “false hemp”. The cultivation of fungi did not generate significant changes in the surface area of the charcoal produced. The characterization analyzes confirmed the complexation of CBD to the carriers, being 4.7% m/m in AC and 22.9% in bCD. *In vitro* analyzes demonstrated that low doses of CBD were sufficient for an inhibition comparable to that of cisplatin. Results were better with the bCD complex but indeterminate with AC. The relative percentage of edema inhibition after four hours of its induction was 22, 23, and 47% for doses of 8.75, 17.5, and 35 mg CBD/kg, respectively. For these same doses complexed in CA it was 26, 31, and 44% and in bCD 41, 43, and 61%. As for IBU, IBU*CA, and IBU*bCD, in the two lowest doses, 29, 41%; 34, 36%; and 30, 53%, respectively, being the IBU content in the complex equal to 11.3% in CA and 11.4% in bCD. The 35 mg/kg doses of IBU and IBU*bCD inhibited 52 and 51%, respectively. Single-dose results did not demonstrate a significant inhibitory effect on MPO activity. **Conclusions** – Rapid tests were improved and enantiomeric characteristics via 2D-NMR were elucidated. Pure natural CBD showed excellent results at *in vitro* antitumor and *in vivo* anti-inflammatory analyses, with even more promising results obtained from its complex with bCD. Therefore, chronic and clinical studies are indicated to enable the development of oral medications with the cannabinoid complexed in this carrier. On the other hand, the complexation in CA did not generate advantages to make it feasible. It showed microporous characteristics that are not suitable for drug complexing. In addition, further studies will be needed to assess the activity of different cannabinoids in the prevention of COVID-19.

Keywords: cannabidiol, hemp, characterization, carrier, bioavailability.

Sumário

Nomenclatura.....	xiv
Lista de Figuras	xv
Lista de Tabelas	xvii
1 Introdução	18
2 Objetivos e justificativas	22
2.1 Objetivo geral	22
2.2 Objetivos específicos	22
2.3 Justificativas	22
3 Revisão científica	24
3.1 Canabidiol: uma importante substância medicinal obtida a partir da polêmica <i>Cannabis</i>	24
3.1.1 A difícil obtenção do bioativo baseada em seu contexto histórico	24
3.1.2 Algumas das técnicas físico-químicas utilizadas para diferenciá-lo de outros canabinóides	31
3.1.3 Algumas de suas atividades farmacológicas em destaque atualmente	34
3.1.4 A liberação controlada como aliada à sua administração oral.....	36
3.2 Carvão ativado: uma alternativa para carrear fármacos	39
3.2.1 Contextualização histórica	39
3.2.2 Composição dos precursores lignocelulósicos	40
3.2.3 Carbonização	43
3.2.4 Ativação	45
3.2.5 Pré-tratamento com fungos	47
3.2.6 Adsorção e a dessorção.....	49
3.2.7 Fissorção de nitrogênio	50
3.3 Cânhamo industrial: a <i>Cannabis</i> com baixo teor psicotrópico	53
3.3.1 Registros antigos da utilização de suas fibras.....	54
3.3.2 Leis específicas em diferentes países	57
3.3.3 Algumas de suas características de cultivo	59
3.3.4 Separação mecânica de suas fibras	60
3.3.5 Análise comparativa de carvões ativados obtidos de suas fibras	63
3.3.6 As suas fibras no atual comércio e indústria nacional.....	66
4 Materiais e Métodos	69
4.1 Autorizações para trabalhar com o CBD não sintético.....	69

4.2	Aperfeiçoamentos em testes rápidos para identificar derivados de <i>Cannabis</i>	71
4.2.1	Testes colorimétricos	73
4.2.2	Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	74
4.3	Análise detalhada da estrutura 3D do CBD e de sua inibição <i>in silico</i> à COVID-19.....	76
4.3.1	Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	76
4.3.2	Inibição à COVID-19 <i>in silico</i>	76
4.4	Produção e caracterização do carvão ativado.....	77
4.4.1	Obtenção do precursor lignocelulósico	77
4.4.2	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	78
4.4.3	Composição centesimal do precursor.....	78
4.4.4	Composição de metais pesados do precursor.....	80
4.4.5	Pré-tratamento do precursor a partir do cultivo de fungos.....	80
4.4.6	Pirólise.....	81
4.4.7	Caracterização dos adsorventes produzidos	82
4.5	Complexação dos fármacos aos carreadores	83
4.5.1	Em carvão ativado.....	83
4.5.2	Em beta ciclodextrina.....	84
4.5.3	Difratometria de Raio-X (DRX).....	84
4.5.4	Análises termogravimétricas.....	84
4.5.5	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção via luz Ultravioleta (HPLC/UV).....	85
4.6	Atividade antitumoral <i>in vitro</i>	86
4.7	Atividade anti-inflamatória aguda <i>in vivo</i>	87
4.7.1	Tratamento dos animais	87
4.7.2	Indução e controle do edema	88
4.7.3	Atividade da mieloperoxidase.....	88
5	Resultados e discussão	89
5.1	Aperfeiçoamento de testes rápidos para identificar derivados de <i>Cannabis</i>	89
5.1.1	Testes colorimétricos	89
5.1.2	Cromatografia de Camada Delgada (CCD)	93
5.2	Análise detalhada da estrutura 3D do CBD e de sua inibição à COVID-19 <i>in silico</i>	97
5.2.1	Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	97
5.2.2	Inibição à COVID-19 <i>in silico</i>	102

5.3	Produção e caracterização do carvão ativado.....	104
5.3.1	Composição do precursor	104
5.3.2	Adsorventes produzidos	105
5.4	Complexação dos fármacos aos carreadores	109
5.4.1	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) ...	110
5.4.2	Difratometria de Raio-X (DRX)	111
5.4.3	Análises termogravimétricas.....	111
5.4.4	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção via luz Ultravioleta (HPLC/UV).....	112
5.5	Atividade antitumoral <i>in vitro</i>	115
5.6	Atividade anti-inflamatória aguda <i>in vivo</i>	117
6	Conclusão	120
7	Referências	123
8	Anexos	147

Nomenclatura

Δ^9 -THC: delta-9-tetrahidrocanabinol;

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

CA: carvão ativado

(-)-CBD ou CBD: canabidiol, enantiômero obtido naturalmente da *Cannabis*;

(+)-CBD: canabidiol, enantiômero obtido de forma sintética;

CDN: Comissão de Drogas Narcóticas (Nações Unidas)

CUE: Convenção Única de Entorpecentes

DEQ: Departamento de Engenharia Química;

EUA: Estado Unidos da América

FBSA: fármaco de baixa solubilidade aquosa;

FTIR: Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier;

IBU: ibuprofeno;

IUPAC: União Internacional de Química Pura e Aplicada;

LSP: Lista de Substância Psicotrópicas da Nações Unidas;

MPF: Ministério Público Federal;

OMS: Organização mundial de Saúde;

SCB: Sistema de Classificação Biofarmacêutico;

SUS: Sistema Único de Saúde;

UEM: Universidade Estadual de Maringá;

Lista de Figuras

Figura 1 – Aspectos morfológicos das plantas de <i>Cannabis</i>	26
Figura 2 – Algumas diferenças das espécies <i>Cannabis sativa</i> e <i>Cannabis indica</i> descritas antes do século XX.....	27
Figura 3 – Comum variação do nível plasmático de um fármaco	38
Figura 4 – Tipos de carreadores utilizados para a liberação controlada de fármacos.....	38
Figura 5 – Estruturas cíclicas e acíclica da D-Glicose.....	41
Figura 6 – Celulose: estrutura genérica evidenciando sua unidade de repetição e suas ligações de hidrogênio intramoleculares e intermoleculares	41
Figura 7 – Hemicelulose: estrutura genérica do xilano, seu principal componente	42
Figura 8 – Estrutura química da lignina e seus principais componentes	43
Figura 9 – Análises termogravimétricas da degradação de componentes lignocelulósicos....	44
Figura 10 – Carvão ativado: representação de sua estrutura amorfa e dos heteroátomos e grupos funcionais comumente encontrados em sua superfície	46
Figura 11 – Mecanismo de criação de poros em materiais lignocelulósicos por hifas de fungos	47
Figura 12 – Comparação das morfologias e áreas de superfície de adsorventes obtidos com e sem pré-tratamento fúngico	49
Figura 13 – Tipos de isoterma de adsorção gás-sólido.....	52
Figura 14 – Comparação entre registros ilustrativos de plantas cultivadas para a obtenção de fibras	56
Figura 15 – Registros fotográficos de cultivos de fibras alternativas no Brasil na primeira década do século XX.....	57
Figura 16 – Ilustrações identificando diferentes partes do caule de cânhamo	61
Figura 17 – Distintos materiais fibrosos obtidos do caule de cânhamo	61
Figura 18 – Processo de separação das <i>fibras externas</i> em <i>primárias</i> e <i>secundárias</i>	62
Figura 19 – Identificação detalhada dos diferentes tipos de fibras do caule.....	63
Figura 20 – Detalhes da embalagem do CBD não sintético da ISODIOL.....	70
Figura 21 – Amostras das quatro variedades de flores de <i>Cannabis</i> adquiridas e analisadas no Uruguai	72
Figura 22 – Extração por prensagem a quente	72
Figura 23 – Amostras submetidas ao teste colorimétrico otimizado	74
Figura 24 – Spawns de <i>Pleurotus ostreatus</i> variedade florida, utilizados neste estudo	80
Figura 25 – Reator utilizado para o processo de pirólise	81
Figura 26 – Resultados das análises de otimização de parâmetros do teste colorimétrico	90
Figura 27 – Resultados das análises do teste colorimétrico com parâmetros otimizados.....	91
Figura 28 – Resultado da análise do CBD via "teste 4-AP" comercial (HEMPTEST)	92
Figura 29 – Resultados das análises de diferentes canabinóides puros via CCD.....	93

Figura 30 – Resultados obtidos das análises por CCD utilizando amostras <i>in natura</i> e descarboxiladas.....	95
Figura 31 – Resultados obtidos nas análises por CCD utilizando amostras de outras variedades <i>in natura</i> e descarboxiladas.....	96
Figura 32 – Espectro RMN- ¹ H da amostra (-)-CBD.....	97
Figura 33 – Espectro RMN- ¹³ C da amostra (-)-CBD	98
Figura 34 – Espectro RMN DEPT 135 da amostra de (-)-CBD	98
Figura 35 – Espectro RMN HSQC da amostra de (-)-CBD	99
Figura 37 – Estruturas planares dos isômeros CBD e Δ^9 -THC	99
Figura 36 – Espectros RMN-2D com correlações escalares de prótons da amostra (-)-CBD.....	100
Figura 38 – Espectro RMN NOESY	102
Figura 39 – Verificações <i>in silico</i> da inibição da protease M ^{PRO} da COVID-19.....	103
Figura 40 – Espectro FTIR da estopa adquirida	105
Figura 41 – Composição de metais pesados da estopa.....	106
Figura 42 – Análise prévia do cultivo de <i>Pleurotus</i> nas estopas	107
Figura 43 – Fissorção de nitrogênio (isoterma de adsorção e dessorção de N ₂ a 77 K).....	108
Figura 44 – Caracterização dos poros do carvão ativado produzido e utilizado como carreador	108
Figura 45 – Tamanho das partículas do CA produzido sob diferentes parâmetros.....	109
Figura 46 – Testes iniciais de complexação (adsorção) do IBU ao CA	110
Figura 47 – Espectros FTIR dos ativos puros e complexados	110
Figura 48 – Espectro DRX do CBD.....	111
Figura 49 – Comparação entre os espectros DRX de fármacos puros e complexados	112
Figura 50 – Análises térmicas dos fármacos e carreadores puros, bem como de seus complexos.....	113
Figura 51 – Resultados obtidos nas análises utilizando o fusiômetro.....	114
Figura 52 – Curva de calibração do IBU utilizando o CBD como padrão interno	114
Figura 53 – Curva de calibração do CBD utilizando o IBU como padrão interno	115
Figura 54 – Resultados das quantificações dos diferentes fármacos em diferentes complexação	115
Figura 55 – Resultados das análises de citotoxicidade <i>in vitro</i> , evidenciando a concentração de CBD necessária para inibir 50 % das células (CI ₅₀)	116
Figura 56 – Gráficos demonstrando as variações dos volumes das patas de animais submetidos a diferentes tratamentos, bem como os percentuais de redução comparados aos grupos controles	118
Figura 57 – Resultados da atividade da mieloperoxidase após 4 h da indução do edema... ..	119

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Medicamentos orais derivados de <i>Cannabis</i> autorizados no Brasil.....	30
Tabela 2 – Comparação entre as principais modificações propostas derivadas do teste colorimétrico de Duquenois	32
Tabela 3 – Composição e teor de carvão obtido de materiais lignocelulósicos.....	45
Tabela 4 – Algumas das classificações criadas para definir fenótipos de <i>Cannabis</i>	58
Tabela 5 – Diferenças físico-químicas entre as <i>fibras externas</i> e as <i>fibras internas</i> de cânhamo.....	62
Tabela 6 – Exemplos de metodologias aplicadas para a produção de carvão ativado a partir de fibras de cânhamo (<i>Cannabis sativa</i> L.) em 1 ou 2 etapas.....	64
Tabela 7 – Classificação das fibras têxteis descritas no <i>Sistema Harmonizado</i>	67
Tabela 8 - Plantas conhecidas como “falso cânhamo” e que produzem fibras têxteis	67
Tabela 9 – Detalhes das compras das flores de <i>Cannabis</i> no Uruguai.....	71
Tabela 10 – Fibras vegetais adquiridas.....	78
Tabela 11 – Comparação entre os valores dos fatores de retenção relativos obtidos via CCDA, bem como dos momentos dipolo e coeficientes de partição octanol/água estimados por mecânica quântica	93
Tabela 12 – Dados experimentais das análises RMN do CBD comparados aos descritos em literatura.....	101
Tabela 13 – Composição centesimal das estopas de fibras de cânhamo	105
Tabela 14 – Adsorventes produzidos.....	107

1 Introdução

O canabidiol (CBD) é uma das substâncias específicas obtida de plantas do gênero *Cannabis*, denominadas canabinóides (Mechoulam e Gaoni, 1967). As suas distintas aplicabilidades medicinais e ausência de significativos efeitos colaterais (Pertwee, 2014) foram avaliadas em uma ampla revisão científica feita recentemente pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2018), que contribuiu, posteriormente, para o reconhecimento do potencial medicinal da planta pelas Nações Unidas. Entretanto, o uso descontrolado dos derivados bioativos do gênero continua sendo uma preocupação para a maioria dos países membros dessa Organização. Logo, a restrição de manipulação dos mesmos permanece amparada pela Convenção Única de Entorpecentes (CUE) (UNODC, 2020). Esta Convenção permite que cada país crie suas próprias leis para regulamentar o cultivo e produção da *Cannabis* visando suas aplicações milenares (Brasil, 1964), seja dos seus bioativos, de suas resistentes fibras ou de suas sementes ricas em ácidos graxos poli-insaturados. Na verdade, o comércio internacional desses produtos tem se tornado cada vez mais promissor (Pertwee, 2014); (Chandra et al., 2017) porque muitos países têm adotado esse caminho (Grijó et al., 2021). O Brasil passou por uma recente tentativa de regulamentação de cultivo coordenada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, mas esta acabou sendo arquivada (ANVISA, 2019a). Atualmente o país permite que pessoas jurídicas importem matérias primas derivadas de *Cannabis* para a fabricar produtos derivados, desde de que não tenham sido comercializadas “sob a forma de droga vegetal da planta *Cannabis* spp. ou suas partes, mesmo após processo de estabilização e secagem, ou na sua forma rasurada, triturada ou pulverizada, ainda que disponibilizada em qualquer forma farmacêutica” (ANVISA, 2019c). Aparentemente, para as instituições regulatórias, a significativa redução nos custos de produção com a regulamentação do cultivo não se torna viável devido a possíveis riscos com o consumo ilegal.

A identificação botânica da *Cannabis* ocorreu formalmente na Europa, em meados do século XVIII, com a descrição de características de uma espécie monotípica denominada *Cannabis sativa* (Linnaeus, 1753). O uso medicinal dessa planta não foi o que havia se destacado por lá até então (Hazekamp, 2017), na verdade a característica marcante foi a qualidade de sua fibra que era comumente utilizada para confeccionar têxteis e utensílios fundamentais para a navegação como velas e cordas (Robinson, 1999). Nessa época o papel ainda era um produto de baixa demanda na Europa, por isso era feito apenas de trapos (restos) desses outros produtos (Van Roekel Jr, 1994). Na China, registros milenares demonstram que a aplicação mais comum também foi a utilização de suas fibras para a fabricação de têxteis e papel (Li, 1973). Até meados do

século XIX o comércio das fibras de *Cannabis* foi bastante significativo no mundo (Conrad, 1995), tendo inclusive registros que indicam que houve cultivos no Brasil (Da Rosa, 2018) para eliminar a dependência de importação do produto inglês (De Oliveira, 2008; 2014).

A identificação de uma segunda espécie na Índia demonstrou um potencial bioativo significativamente maior. O primeiro costume local observado foi que o ato de fumá-la causava perturbação ao cérebro (Lamarck, 1785). Atualmente, sabe-se que esse hábito foi amplamente difundido pela África e que depois chegou a América (Warf, 2014). Posteriormente, um estudo mais detalhado observou que a *Cannabis indica* era localmente utilizada para o controle de diversas enfermidades (O'shaughnessy, 1843). Os detalhes fisiológicos das aplicações medicinais foram estudados e difundidos na Europa e na América (Pertwee, 2014; Chandra et al., 2017). No final do século XIX um amplo estudo indo-britânico reconheceu os benefícios medicinais dessa espécie, mas também descreveu que o uso excessivo poderia causar efeitos colaterais (IHDC, 1895; Hall, 2019).

No início do século XX, tornou-se mundial a discussão sobre possíveis malefícios causados pelo uso abusivo da *Cannabis indica* (Unodc, 2010). Além disso, o uso das fibras da *Cannabis sativa* havia diminuído drasticamente devido a acessão da industrialização da madeira (Sjöström, 1993), do algodão (Bruckle, 2009) e das fibras sintéticas (Schwarz e Kovačević, 2017). Nessa época começaram a ser desenvolvidos métodos colorimétricos para identificação presuntiva de seus derivados (Blackie, 1941), visando auxiliar o combate ao tráfico (UNODC, 2009). A CUE foi criada em meados do século XX (Brasil, 1964), mantendo por estas últimas décadas a classificação para a *Cannabis* de produto nocivo e sem potencial medicinal (UNODC, 2020). Anos depois da criação desta *Convenção* as estruturas químicas dos principais bioativos específicos da planta foram elucidadas, recebendo estes a denominação de “canabinóides”. O delta⁹-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), um isômero do CBD, foi identificado como sendo o principal canabinóide psicomimético da planta, ou seja, capaz de causar sintomas similares a psicose (Mechoulam e Gaoni, 1967). Este bioativo, seus isômeros e seus sais foram incluídos na *Lista de Substâncias Psicotrópicas das Nações Unidas* (UN, 1971), substâncias capazes de alterar funções cerebrais (Pertwee, 2014).

Os pioneiros estudos brasileiros da penúltima década do século XX potencializaram o uso medicinal do CBD sem significativos efeitos colaterais, sendo o tratamento à epilepsia bastante promissor (Cunha et al., 1980; Carlini, Cunha, 1981). Nos últimos anos, foram resultados positivos diante essa enfermidade que impulsionaram as primeiras regulamentações de importação de medicamentos com o bioativo no país

(ANVISA, 2015b). Atualmente o tratamento com o CBD vem sendo estudado e aplicado em diversas doenças (Pertwee, 2014; WHO, 2018), inclusive diante à atual pandemia do coronavírus 2019 (COVID-19) (Nguyen et al., 2021). A atividade anti-inflamatória da substância é uma de suas aplicações farmacológica que mais tem se destacado (Nagarkatti et al., 2009), sendo necessário baixas doses para proporcionar eficientes resultados (Costa et al., 2004). Os princípios ativos naturais com essas características vêm sendo comumente analisados como alternativas aos anti-inflamatórios sintéticos predominantemente produzidos e comercializados, como o ibuprofeno (IBU), pois podem gerar resultados eficientemente equiparáveis com menores riscos de produzir efeitos colaterais (Wisniewski-Rebecca et al., 2015). Bioativos que necessitam de altas doses para uma eficiente comparação à fármacos de referência (De Almeida et al., 2018) podem apresentar desvantagens devido ao elevado volume administrado, como efeitos colaterais e maiores custos de produção (Epstein et al., 2010).

No Brasil, quatorze medicamentos de *Cannabis* já são comercializados na forma oral (ANVISA, 2017b; 2020d; 2021b-h; 2022a-b). Logo, a eficácia destes dependem da biodisponibilidade de seus ativos. O CBD (Garrett e Hunt, 1974), assim como o IBU (Friuli et al., 2018) e muitos outros fármacos, apresenta problemas de biodisponibilidade devido possuir baixa solubilidade aquosa (Fasinu et al., 2011). Uma maneira comum de aumentar a biodisponibilidade de um fármaco com essa característica é complexá-lo a um carreador biocompatível ao qual permitirá que sua dissolução (liberação) ocorra de forma controlada. A liberação controlada possibilita que a concentração ativa deste fármaco permaneça dentro de sua faixa terapêutica por um longo período, promovendo um efetivo tratamento e evitando efeitos adversos (Bizerra e Silva, 2016). Além disso, ela permite reduzir os possíveis efeitos colaterais devido a necessidade de uma menor quantidade do fármaco durante o tratamento (De Almeida et al., 2018).

Os carreadores farmacêuticos comumente utilizados são constituídos de polímeros naturais ou sintéticos (Gomes et al., 2015; Bizerra e Silva, 2016), mas resultados interessantes com carvão ativado (CA) também foram obtidos em estudos de bancada simulando condições humanas (Miriayala et al., 2017; Yaneva, 2019). O CA possui uma elevada capacidade de interação com fármacos devido sua significativa área superficial (Figueiredo et al., 1999), e, por ser biocompatível, já é aplicado na medicina para tratamentos de intoxicação (Juurlink, 2016). Nos últimos anos, sua produção tem-se baseado na utilização de precursores renováveis, seguros, baratos e disponíveis em grandes quantidades como os resíduos agroindustriais (Alkurdi et al., 2019).

A fibra da *Cannabis* não possui teores significativos de canabinóides (Fritschi et al., 2006) e sua produção industrial não foi restrita pela CUE (Brasil, 1964). Dessa forma,

muitos países criaram leis para definir o teor máximo de Δ^9 -THC das variedades da planta para essa finalidade (Canadá, 1998; GR, 2010; Decorte, 2011; Uruguai, 2013; USA, 2018; FSANZ, 2019). Normalmente, a identificação da espécie não é importante e a planta com teor menor que o estipulado é denominada “cânhamo”. As fibras de cânhamo são direcionadas para diversas aplicações industriais (Guerriero et al., 2017; Bambi et al., 2018; Gedik e Avinc, 2020), mas durante o beneficiamento mecânico é gerado um resíduo chamado estopa (USDA, 2000) de baixo valor agregado (Chandra et al., 2017). Estudos demonstram que carvões ativados produzidos a partir de derivados fibrosos da planta (Williams e Reed, 2003; Rosas et al., 2009; Sun et al., 2016; Vukcevic et al., 2015; 2017) podem apresentar maiores áreas superficiais e menores custos de produção quando comparados a outros materiais lignocelulósicos (Reed e Williams, 2004; Dizbay-Onat et al., 2018; Hossain et al., 2018). Em estudos paralelos fungos cresceram de maneira singular nas fibras de cânhamo (Siwulski et al., 2010), sendo este um método alternativo promissor para aumentar a área superficial do CA (Wang et al., 2011b; Wang et al., 2019). Atualmente, o baixo teor psicotrópico do cânhamo também tem o tornado uma alternativa viável para o crescente mercado medicinal da *Cannabis* (Cherney e Small, 2016).

2 Objetivos e justificativas

O segundo capítulo traz as descrições do “*Objetivo geral*” e dos “*Objetivos específicos*” desta tese, bem como suas respectivas “*Justificativas*”.

2.1 Objetivo geral

Realizar caracterizações do CBD e avaliar se sua complexação em diferentes carreadores proporciona um aumento de biodisponibilidade, visando potencializar o desenvolvimento de medicações orais.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- a) aperfeiçoar testes rápidos colorimétricos e de *Cromatografia em Camada Delgada* (CCD) para a identificação de derivados de *Cannabis*;
- b) analisar detalhes da estrutura tridimensional do CBD utilizando técnicas de *Ressonância Magnética Nuclear Bidimensional* (RMN-2D);
- c) avaliar a atividade inibitória *in silico* do CBD frente a principal protease do coronavírus 2019 (COVID-19);
- d) a produção e caracterização de carvão ativado (CA) de estopas de “fibras de cânhamo”, sendo também avaliado o efeito do cultivo de fungos às fibras como pré-tratamento;
- e) produzir e caracterizar complexos do CBD com o CA produzido e com um carreador amplamente difundido (bCD), bem como avaliar o possível aumento de biodisponibilidade a partir de análises com células antitumorais *in vitro* e de atividade anti-inflamatória aguda *in vivo*.

2.3 Justificativas

De maneira geral os objetivos propostos são abordagens inovadoras e com grande potencial científico e industrial, indo de encontro a interesses atuais do país. O desenvolvimento de estudos ajudará avaliar produtos e subprodutos de interesse nacional.

- a) → O aperfeiçoamento de teste rápidos que são utilizados em identificações preliminares é importante para diminuir as chances de se obter um resultado falso positivo, tornando assim a abordagem mais eficaz;
→ Demandas por diferentes produtos derivados de *Cannabis* têm aumentado, podendo estes apresentar, além de regulamentações, características distintas;

- Muitos dos testes praticados com esta finalidade atualmente utilizam reagentes nocivos;
- b) → A diferenciação do CBD do seu isômero psicotrópico Δ^9 -THC é bastante importante e conhecida, porém sabe-se que os enantiômeros (-)-CBD e (+)-CBD também possuem diferentes potenciais farmacológicos;
 - Algumas das análises de RMN-2D para o enantiômero natural (-)-CBD ainda não foram descritas na literatura
- c) → As estopas de fibras de cânhamo são consideradas um resíduo industrial com baixo valor agregado, sendo ainda comercializadas formalmente no mercado brasileiro e permitidas para o beneficiamento industrial;
 - Os carvões ativados obtidos a partir de fibras de cânhamo podem apresentar vantagens quando comparado aos outros obtidos por matérias primas similares;
 - Não foi encontrada na literatura a produção de CA de fibras de cânhamo a partir do método de ativação utilizado, ativação física com dióxido de carbono (CO_2);
 - A literatura demonstra que o método de pré-tratamento pelo cultivo de *Pleurotus* aplicado a diferentes biomassas pode proporcionar carvões ativados com características promissoras para adsorção de substâncias orgânicas, sendo ainda observado resultados vantajosos quando utilizadas fibras de cânhamo;
- d) → O CBD é um bioativo ao qual, além de apresentar eficiente atividade anti-inflamatória com baixas doses, se tem, atualmente, um amplo interesse nacional para o desenvolvimento de fármacos para uso terapêutico por via oral;
 - Os estudos prévios em literatura descrevendo a adsorção e a liberação controlada de fármacos de baixa solubilidade aquosa a partir de CA apresentaram resultados promissores;
 - Não foram encontrados estudos sobre a complexação de CBD em CA;
 - A utilização de um carreador de referência permite comparar resultados;
 - As caracterizações físico-químicas dos complexos são importantes para avaliar a eficácia dos processos de complexação;
 - Análises *in vitro* e *in vivo* de fármacos complexados em CA ainda não foram descritas na literatura, sendo também adequadas por serem rápidas e poder potencializar futuros estudos crônicos e clínicos.

3 Revisão científica

O terceiro capítulo se inicia apresentando uma revisão científica sobre o “*Canabidiol: uma importante substância medicinal obtida a partir da polêmica Cannabis*”, que foi, ao longo dessa tese, caracterizada, por diferentes técnicas, em sua forma pura e complexada em carreadores. Na sequência, esta revisão tratou de avaliar o “*Carvão ativado: uma alternativa para carrear fármacos*”, sendo este, assim como o canabidiol, possível de ser obtido a partir do “*Cânhamo industrial: a Cannabis com baixo teor psicotrópico*”.

3.1 Canabidiol: uma importante substância medicinal obtida a partir da polêmica Cannabis

Este tópico aborda inicialmente “*A difícil obtenção do bioativo baseada em seu contexto histórico*”, sendo, posteriormente, apresentada “*Algumas das técnicas físico-químicas utilizadas para diferenciá-lo de outros canabinóides*”. Na sequência, aborda-se sobre “*Algumas de suas atividades farmacológicas em destaque atualmente*” e “*A liberação controlada como aliada à sua administração oral*”.

3.1.1 A difícil obtenção do bioativo baseada em seu contexto histórico

As plantas do gênero *Cannabis* foram uma das primeiras a serem cultivadas pelos seres humanos (Li, 1973; Hazekamp, 2017). Acredita-se que suas aplicações medicinais foram inicialmente difundidas pelo mítico imperador chinês Shen Nung, ao qual é atualmente referenciado por enormes monumentos esculpidos com uma cabeça humana e chifres de búfalo/boi, ou seja, animais potencializadores da cultura agrícola (Yang et al., 2008). Seu uso medicinal é descrito na farmacopeia mais antiga do mundo, chamada Chêng-lei pên-ts'ao, a qual foi compilada a partir de tradições orais chinesas datadas de 2700 AEC (Li, 1973), e que descreve, por exemplo, o tratamento de enfermidades como malária, gota e prisão de ventre. Os possíveis malefícios do uso excessivo da planta também foram descritos nesta farmacopeia (Goldstein, 2016). Os antigos registros de sua utilização medicinal também estão presentes no papiro egípcio de Ebers, de 1550 AEC, onde observa-se sua descrição para o tratamento de inflamações (Abdel-Aziz et al., 2016). Entretanto, foi na Índia que o uso medicinal alcançou uma maior importância, sendo os primeiros registros evidenciados por volta de 1500 AEC, no Atharva-veda, para o tratamento de muco respiratório e diarreia (Hazekamp, 2017). Na Europa, para alguns historiadores, os primeiros registros foram feitos por civilizações greco-romanas (Butrica, 2002), porém, foi durante a Idade Média que evidências mais claras do seu uso para tratamentos como tosse, febre, inflamação, dores e outras doenças foram observadas (Goldstein, 2016). A cultura medicinal da *Cannabis* na Europa foi consideravelmente mais

discreta do que na Índia, sendo a razão disto compreendida a partir de estudos botânicos conduzidos no século XVIII.

O botânico sueco Carl Linnaeus analisou, em 1753, plantas de *Cannabis* presentes no continente europeu, definindo assim uma espécie monotípica que denominou *Cannabis sativa* (Linnaeus, 1753). Em 1760 descreveu com detalhes o dimorfismo do gênero e a particularidade que plantas fêmeas apresentavam quando isoladas: “... semei as sementes de cânhamo (*Cannabis*) em dois vasos diferentes... Em um deles, permiti que as plantas masculinas e femininas permanecessem juntas, para florescer e dar frutos, ... Do outro, no entanto, tirei todas as plantas masculinas, assim que elas tinham idade suficiente para eu distingui-las das fêmeas. As fêmeas restantes cresceram muito bem, e apresentaram sua longa pistila em grande abundância, essas flores continuando por muito tempo, como se na expectativa de seus companheiros; enquanto as plantas do outro vaso já haviam amadurecido a fruta, a pistila, de maneira bastante diferente, desapareceu assim que os machos descarregaram todo o pólen. Foi certamente um belo e verdadeiramente admirável espetáculo, ver as fêmeas não-impregnadas preservarem sua pistila tão verde e florescente, não permitindo que começassem a desbotar, até que por um tempo muito considerável explodiram, em vão, para acessar o pólen do macho.” (Linnaeus, 1786).

A Figura 1 mostra algumas das características descritas por Linnaeus, bem como outras que são amplamente conhecidas atualmente. As plantas masculinas possuem poucas folhas ao redor das flores (androceu) e morrem logo após o pólen ser liberado. Por outro lado, as plantas fêmeas possuem muitas folhas em cada inflorescência terminal (gineceu) (Dewey, 1914). A bioatividade do gênero ocorre devido a presença de substâncias na resina produzida por células chamadas tricomas glandulares, que estão em grande quantidade na parte externa das flores fêmeas (UNODC, 2009), ou, como sugere um novo estudo, “dos frutos partenocárpicos da planta” (Riboulet-Zemouli, 2020). Por outro lado, as folhas possuem tricomas chamados de não-glandulares (UNODC, 2009). A resina pode ser coletada utilizando métodos físicos e equipamentos com seções de separação com poucos micrômetros. Este produto, chamado de “kief” (ou “kif”), ainda mantém características da planta que podem ser identificadas por microscópio, mas também pode ser submetido a diferentes processos para ser transformado no chamado “hashish” (ou “hash”) (UNODC, 2009). Plantas monoicas são raras (Punja e Holmes, 2020) e normalmente geradas em condições naturais desfavoráveis (UNODC, 2008), porém podem ser utilizadas na otimização da produção de sementes (Blade et al., 1999).

O botânico francês Jean-Baptiste de Lamarck observou, em 1785, que plantas providas da Índia apresentavam diferentes características, classificando assim uma nova

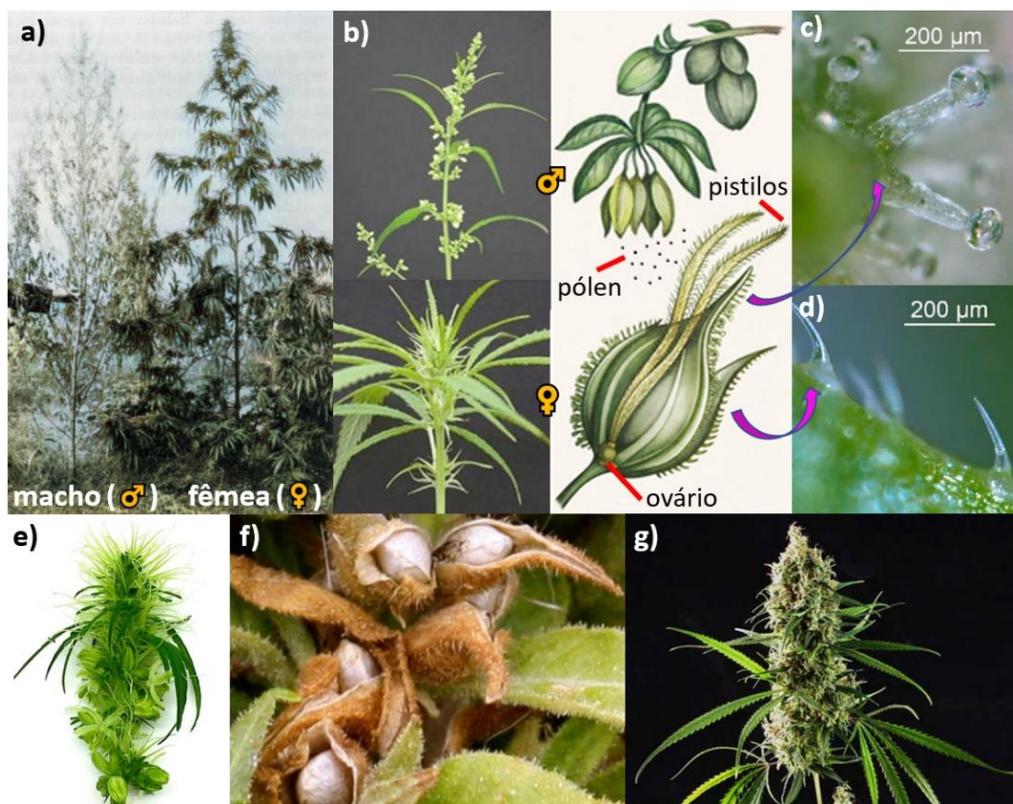


Figura 1 – Aspectos morfológicos das plantas de *Cannabis*: a) plantas dioicas (Dewey, 1914); b) androceu (♂) e gineceu (♀) (Chandra et al., 2017; OCS, 2021); c) tricomas glandulares; d) tricomas não-glandulares (UNODC, 2009); e) planta monoica (hermafrodita) (Chandra et al., 2017); f) sementes formadas após polinização (HOC, 2015); g) flores fêmeas não polinizadas (alta teor de resina) (Elsohly, 2007).

espécie chamada *Cannabis indica*. Lamarck reparou que a *Cannabis sativa*, popularmente conhecida como cânhamo, ou, do inglês, “*hemp*”, era cultivada para a colheita de fibras e sementes. Com isso, a nova espécie foi popularmente denominada de cânhamo indiano, ou, “*Indian hemp*”, tendo como principais diferenças: menor tamanho, maior quantidade de ramificações, caule duro contendo fibras de baixa qualidade, cheiro mais forte e alto potencial de produzir perturbação ao cérebro quando consumida (sendo comum o hábito de fumar folhas secas pela população local) (Lamarck, 1785). O médico britânico William Brooke O’Shaughnessy, contratado pela *Companhia das Índias Orientais*, observou, entre 1838 e 1840, que o cânhamo indiano era amplamente utilizado para o controle de enfermidades na Índia. Em seus estudos descreveu algumas das diferentes formas de consumo que observou: *bhang* (folhas de baixa qualidade e flores férteis), *ganja* ou *gunjah* (inflorescências femininas não fertilizadas), *charas* (resina, atualmente conhecida como *haxixe*) e *majoon* (confecção oral) (Chandra et al., 2017). Atualmente, sabemos que o hábito de fumar derivados da planta com essas características também foi amplamente difundido em países da África (*diamba* ou *maconha*) e que o cultivo/consumo chegou ao Brasil através de escravos ou navegadores

portugueses por volta de 1549. Além disso, que posteriormente foi também difundido nos países da América colonizados por espanhóis (*marijuana*) (Warf, 2014). Por outro lado, sabe-se que as plantas comuns na China antiga possuíam características semelhantes às do cânhamo europeu, ou seja, com fibras e sementes de boa qualidade (Ranalli, 1999; Chandra et al., 2017). A Figura 2 mostra algumas das diferentes características das espécies identificadas e como estavam distribuídas no velho mundo.

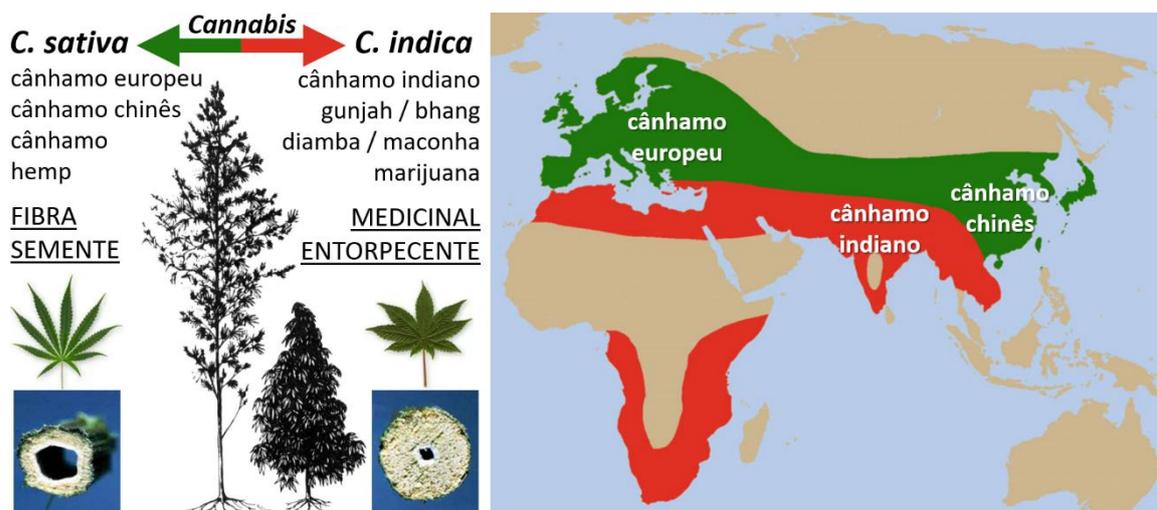


Figura 2 – Algumas diferenças das espécies *Cannabis sativa* e *Cannabis indica* descritas antes do século XX (ilustração adaptada a partir de dados descritos por Warf (2014) e Chandra et al. (2017)).

Os estudos de O'Shaughnessy foram os primeiros que demonstraram experimentalmente o fundamento fisiológico de algumas das aplicações medicinais da *Cannabis*, iniciado em animais e depois conduzido em seres humanos (O'shaughnessy, 1843). Por isso, foram fundamentais para a difusão dos medicamentos na Europa e na América (Russo, 2002). Neste mesmo século iniciaram-se estudos de isolamento e elucidação das estruturas químicas das substâncias específicas da planta (Smith e Smith, 1847; Wood et al., 1899). Além disso, houve um amplo estudo indo-britânico, chamado "Report of the Indian Hemp Drugs Commission", que, em 1895, reconheceu os benefícios medicinais do uso moderado da *Cannabis*, mas que também descreveu que o uso excessivo poderia causar efeitos colaterais físicos, mentais e morais (IHDC, 1895; Hall, 2019). No Brasil, houve registros do uso e comércio de derivados medicinais durante o final desse século e início do século XX (Carvalho, 1995).

De forma global, o uso abusivo de derivados do cânhamo indiano foi citado inicialmente durante a *Convenção Internacional do Ópio*, em 1912, a qual fundamentou entre as nações o primeiro tratado internacional contra drogas. Nesta Convenção, as restrições à derivados do ópio, resina obtida das plantas do gênero *Papaver*, pré-

definidas na *Comissão Internacional do Ópio*, em 1909, foram expandidas para derivados da coca, folhas de plantas do gênero *Erythroxylum*. Entretanto, devido à falta de instrução, definição e estatística, as restrições sob os derivados do cânhamo indiano só foram melhor abordadas durante a *2ª Convenção Internacional do Ópio*, em 1925. Ainda assim, na ocasião, esta Convenção teve que se atentar para que muitas de suas definições não destruíssem de forma abrupta alguns costumes tradicionais da Índia (UNODC, 2010). Aos poucos a *Cannabis* foi sendo removida das farmacopeias do mundo (exemplo: Britânica 1932, dos EUA 1942 e da Índia 1966) (Brown, 1998). A *Convenção Única sobre Entorpecente* (CUE), de 1961, restringiu “a *Cannabis* e sua resina” ao uso medicinal e científico, classificando-as como matérias-primas da “*Lista 1*”, ou seja, que podem produzir substâncias sujeitas à abuso, e da “*Lista 4*”, ou seja, que não têm vantagens terapêuticas que compensem esses efeitos (Brasil, 1964). Anos mais tarde, os principais bioativos do gênero, ou seja, o canabidiol (CBD) e do Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), tiveram suas respectivas estruturas químicas elucidadas por Mechoulam e Shvo (1963) e Gaoni e Mechoulam (1964). Foi observado que estas e outras substâncias com estruturas químicas semelhantes presentes na resina eram exclusivas do gênero, criando assim a classe dos canabinóides (Mechoulam e Gaoni, 1967). O Δ^9 -THC e seus isômeros foram incluídos na *Lista de Substâncias Psicotrópicas das Nações Unidas* (UN, 1971), sendo então definidos como substâncias com potencial de alterar funções cerebrais como percepção, humor, emoção e cognição (Pertwee, 2014).

Estudos científicos brasileiros da década de 80 potencializaram significativamente o uso do CBD para o tratamento da epilepsia, devido a resultados eficientes com ausência de toxicidade, efeitos colaterais e efeitos psicotrópicos (Carlini e Cunha, 1981; Cunha et al., 1980). Em contrapartida, o Δ^9 -THC vinha apresentando resultados interessantes devido a propriedades antieméticas e estimulantes do apetite, por isso, em 1985, nos Estados Unidos, foi autorizada a venda de sua formulação sintética conhecida como dronabinol ou Marinol® (Pertwee, 2014). Estudos posteriores demonstraram que derivados da *Cannabis* apresentavam alta atividade a diferentes tipos de receptores animais, aos quais foram denominados CB₁ (Devane et al., 1988) e CB₂ (Munro et al., 1993). Além disso, substâncias endógenas derivadas do ácido araquidônico, que também se ligam a estes receptores, foram isoladas e tiveram suas estruturas química definidas. A anandamida (AEA) (Devane et al., 1992) e o 2-araquidonoil glicerol (2-AG) (Mechoulam et al., 1995) são duas destas substâncias que ficaram conhecidas como endocanabinóides. Atualmente sabe-se que os canabinóides, ou seja, os fitocanabinóides, os endocanabinóides e os canabinóides sintéticos, apesar da alta afinidade, são ligantes não seletivos de receptores CB₁ e CB₂, já que substâncias não-

canabinóides, como, por exemplo, o b-cariofileno, também podem se ligar a estes (Gertsch *et al.*, 2008).

No Brasil, em 1998, a *Agência Nacional de Vigilância Sanitária* (ANVISA) restringiu a *Cannabis*, pelo “*Regulamento técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial*”, à “*Lista E – Lista de plantas que podem originar substâncias entorpecentes e ou psicotrópicas*”, e o Δ^9 -THC e seus isômeros à “*Lista F2 – Substâncias psicotrópicas proscritas*” (ANVISA, 1998). Em 2015, a ANVISA classificou o CBD na “*Lista C1 – Outras substâncias sujeitas a controle especial*” (ANVISA, 2015a), criando, na sequência, regras para a importação de medicamentos à base de CBD e Δ^9 -THC prescritos por médicos (ANVISA, 2015b; 2016). Em 2017, a Agência incluiu a espécie *Cannabis sativa* L. na *Lista de Plantas Medicinais* (ANVISA, 2017a). Atualmente, de fato, não existe uma definição cientificamente unânime para as espécies de *Cannabis* e muitas vezes o gênero é considerado monotípico (Fassio *et al.*, 2013).

Em junho de 2018, a *Organização Mundial da Saúde* (OMS) sugeriu à *Comissão de Drogas Narcóticas das Nações Unidas* (CDN) que importantes modificações para as restrições da *Cannabis* e seus derivados fossem tomadas. Uma delas foi para que o CBD puro, implicitamente restrito pela CUE, por ser um ativo obtido da planta, se desvincule dessa Convenção, devido suas diversas aplicações farmacológicas e ausência de efeitos colaterais significativos. Segundo a Organização este canabinóide parece não atuar diretamente no receptor CB₁ e ter baixa afinidade ao receptor CB₂ (WHO, 2018). Na verdade, (González-Mariscal *et al.*, 2021) demonstram que essa é uma característica exclusiva do enantiômero (-)-CBD que está presente naturalmente na planta. Os autores demonstraram que o (+)-CBD, que pode ser obtido sinteticamente, apresenta uma modesta afinidade por ambos os receptores. De acordo com a OMS o (-)- Δ^9 -THC, presente naturalmente na planta, e o dronabinol possuem a mesma estrutura química e alta afinidade ao CB₁ e CB₂, sendo o psicotropismo dos mesmos mediada através da ativação do CB₁. Após esta revisão a OMS também sugeriu a CDN que “*a Cannabis e sua resina*” tivessem seus “*efeitos terapêuticos que compensam os possíveis danos de abuso*” reconhecidos, ou seja, que fossem removidas da “*Lista 4*” da CUE (WHO, 2018). A remoção foi aceita pela CND no final de 2020, após tentativas frustradas de se obter um consenso entre as nações. Entretanto, as outras recomendações sugeridas pela OMS não foram aprovadas (UNODC, 2020).

Algumas das outras atualizações sobre o tema *Cannabis* que foram importantes para o Brasil nos últimos anos foram: (1) um estudo que descreve sínteses de derivados do CBD (Breuer *et al.*, 2016), apesar de ainda não terem sido reportados estudos sobre os possíveis efeitos colaterais; (2) a solicitação de inclusão de medicamentos derivados

da *Cannabis* na lista do Sistema Único de Saúde (SUS) (MPF, 2019); (3) o arquivamento de uma proposta de “Cultivo para fins científicos e medicinais” (ANVISA, 2019a); (4) a publicação de uma nova farmacopeia nacional (ANVISA, 2019b), sem considerar a espécie como planta medicinal; (5) a inclusão do dronabinol na “Lista A3 – Substância psicotrópica, sujeita a notificação de receita A”; (6) a definição de que apenas o CBD sintético continuasse classificado na “Lista C1”, tornando o fitocanabinóide puro classificado na “Lista E” (ANVISA, 2020c) e conseqüentemente, para pesquisa (ANVISA, 2020b), suscetível a maiores restrições; (7) a definição de procedimentos para importar exclusivamente insumos de *Cannabis*, e não a planta ou parte dela, para a fabricação e/ou comercialização de produtos para fins medicinais (ANVISA, 2019c). Atualmente, quatorze medicamentos derivados de *Cannabis* são vendidos no país (Tabela 1). Destes, treze foram autorizados após a recente implementação do item (7). O Mevatyl®, fabricado pela GW Pharma do Reino Unido, equivalente ao Sativex® vendido em outros países (ANVISA, 2020a), foi o único que já era autorizado antes desta implementação (ANVISA, 2017b). Apesar da disseminação de derivados de *Cannabis* ser arduamente combatida no país (Patriota et al., 2021), autorizações judiciais para o cultivo e distribuição de medicamentos foram concedidas para duas associações: a ABRACE (Associação Brasileira de Apoio a Cannabis Esperança) na Paraíba e a APEPI (Apoio a Pesquisa e Pacientes de Cannabis Medicinal) no Rio de Janeiro. Os requisitos de segurança desses cultivos vêm sendo continuamente aprimorados e fiscalizados pela ANVISA (ANVISA, 2021a).

Tabela 1 – Medicamentos orais derivados de *Cannabis* autorizados no Brasil.

#	Ativo	mg/mL	Empresa	Validade	Referência
1º	Δ^9 -THC + CBD	27 + 25	Beaufour Ipsen	24 meses	ANVISA, 2017b
2º	CBD	200	Prati-Donaduzzi	24 meses	ANVISA, 2020d
3º	CBD	50	Prati-Donaduzzi	18 meses	ANVISA, 2021h
4º	CBD	20	Prati-Donaduzzi	18 meses	ANVISA, 2021h
5º	CBD	34,36	NuNature	24 meses	ANVISA, 2021b
6º	CBD	17,18	NuNature	24 meses	ANVISA, 2021b
7º	CBD	200	Farmanguinhos	24 meses	ANVISA, 2021c
8º	CBD	50	Verdemed	24 meses	ANVISA, 2021d
9º	Extrato	200	Promediol	18 meses	ANVISA, 2021e
10º	Extrato	200	Zion Medpharma	24 meses	ANVISA, 2021e
11º	CBD	23,75	Verdemed	24 meses	ANVISA, 2021f
12º	Extrato	200	Alafiamed	18 meses	ANVISA, 2021g
13º	Extrato	79,14	Greencare Pharma	24 meses	ANVISA, 2022a
14º	Extrato	79,14	Ease Labs	24 meses	ANVISA, 2022b

3.1.2 Algumas das técnicas físico-químicas utilizadas para diferenciá-lo de outros canabinóides

Os canabinóides presentes nas amostras frescas de *Cannabis* são predominantemente aqueles que possuem um grupo carboxílico, denominado "canabinóides ácidos" (Grijó et al., 2019b-c). Esses canabinóides são bastante instáveis e dificilmente isolados em grandes quantidades, porém, atualmente, tem-se aumentado o interesse em estudos para avaliar seus potenciais farmacológicos (Stone et al., 2020). A conversão dessas substâncias nos chamados "canabinóides neutros", que possuem maior estabilidade e bioatividade conhecida, como o CBD e o Δ^9 -THC, é comumente realizada a partir de um processo sob aquecimento controlado denominado descarboxilação (Grijó et al., 2019b-c). Por isso, esta é uma rota industrial viável para obtenção do CBD de alta pureza (Ko e Hughes, 2020). A descarboxilação prévia também é um processo que vem sendo utilizado antes da produção de derivados comestíveis ativos, ou seja, com concentrações significativas de CBD e/ou Δ^9 -THC (Peng e Shahidi, 2021). É interessante notar que os óleos essenciais da planta, como seus terpenos, que podem facilmente identificados por cães durante operações de erradicação de drogas (Garriott, 2020), são comumente perdidos durante a descarboxilação (Grijó et al., 2019b-c). Portanto, eficientes métodos industriais já vêm sendo desenvolvidos visando não desperdiçar esses característicos voláteis durante este processo (Milestone, 2019).

Os laboratórios forenses comumente consideram testes colorimétricos como presuntivos para identificar possíveis derivados de *Cannabis* (UNODC, 2009). Estes testes começaram a ser desenvolvidos no início do século XX (Blackie, 1941), em paralelo aos debates internacionais sobre os possíveis riscos à saúde causados por estes derivados (IHDC, 1895; UNODC, 2010; Hall, 2019). O teste desenvolvido por Duquenois e Negm, em 1938, se destacou significativamente na época, descrevendo o aparecimento de uma coloração violeta a partir da reação do extrato etéreo da planta com uma solução etanólica dos aldeídos vanilina e etanal posteriormente acidificada. Entretanto, em 1941, foi observado que o aldeído alifático (etanal = acetaldeído) não era um reagente limitante para a observação dessa cor (Blackie, 1941). Posteriormente, houve uma proposta de tornar o teste mais seletivo ao adicionar clorofórmio no meio reacional em uma etapa subsequente e verificar se haveria o aparecimento da cor violeta na fase apolar ("*Teste de Duquenois-Levine*" = "Teste DL") (Bailey, 1979). De acordo com (Jacobs e Steiner, 2014), a cor é detectada no clorofórmio devido a posição fenólica "para" do canabinóide estar livre e apenas moléculas com uma longa cadeia alifática serem capazes de migrar para a fase apolar. Atualmente, o *Escritório sobre Drogas e Crime das Nações Unidas* (UNODC) recomenda como via presuntiva a forma simplificada

desse teste (UNODC, 2009) ("Teste Rápido de Duquenois-Levine", descrito em 1956) que desconsidera a etapa inicial de preparo do extrato. Há também outra versão modificada bastante conhecida, proposta em 1969, descrevendo o "teste rápido" com metaldeído ao invés do acetaldeído (Bailey, 1979). A Tabela 2 mostra de forma simplificada a comparação entre esses métodos.

Tabela 2 – Comparação entre as principais modificações propostas derivadas do teste colorimétrico de Duquenois.

Testes colorimétricos derivados do de Duquenois	Ano	Etapas			
		Prévia	1ª	2ª	3ª
Teste de Duquenois-Negm	1938	Extrato*	(V+A) em EtOH	HCl	-
Teste de Duquenois-Negm simplificado	1941	Extrato*	(V) em EtOH	HCl	-
Teste de Duquenois-Levine	1941	Extrato*	(V+A) em EtOH	HCl	CHCl ₃
Teste rápido de Duquenois-Levine	1956	-	(V+A) em EtOH	HCl	CHCl ₃
Meta teste de Duquenois-Levine	1969	-	(V+M) em EtOH	HCl	CHCl ₃

Nota: * = obtido utilizando éter; V = vanilina; A = acetaldeído; M = metaldeído; EtOH = etanol; HCl = ácido clorídrico concentrado; CHCl₃ = clorofórmio.

Em 2017 um teste colorimétrico baseado nas reações de canabinóides com o 4-aminophenol (4-AP) foi desenvolvido pelo *Instituto Forense de Zurich* (Suíça). O teste visa diferenciar presumivelmente amostras com baixos teores de Δ^9 -THC (comumente < 0.3 % em massa), classificadas como cânhamo industrial ("Industrial hemp"), das que possuem teor de Δ^9 -THC > CBD, classificadas como droga "Drug hemp" (Lewis et al., 2021) ou "Drug type" ou maconha (Cascini et al., 2019). O *Departamento de Polícia da Virginia* (Estados Unidos da América, EUA), por exemplo, adota a utilização do modelo comercial do "teste 4-AP" após uma análise via modelo comercial do "teste DL" (VDFS, 2019), apesar de ambos ainda descreverem "falsos positivos" na literatura (Kelly et al., 2012; Lewis et al., 2021). De acordo com esta instituição, uma amostra deve ser enviada para análises laboratoriais avançadas quando se observada um resultado positivo via "teste DL" e positivo ou inconclusivo via "teste 4-AP" (VDFS, 2019).

A *Cromatografia de Camada Delgada* (CCD) também é considerada como um teste simples nesse contexto, mas possui uma melhor capacidade de identificar os diferentes canabinóides de uma amostra. O teste CCD comumente aplicado em análises de derivados de *Cannabis* utiliza uma fase estacionária polar constituída por uma fina camada de sílica gel. A superfície deste material interage de maneira singular com as diferentes substâncias à medida que estas são arrastadas por capilaridade por uma mistura de solventes. Normalmente, nestas condições de análise, canabinóides com ausência de um grupo carboxílico, como o CBD e o Δ^9 -THC, percorrem maiores distâncias por interagirem menos com essa fase estacionária com característica polar, e

o ajuste da composição da mistura de solventes é suficiente para identificar qualitativamente uma amostra (UNODC, 2009). Estudos recentes têm demonstrado ser possível correlacionar as propriedades químicas dos componentes da amostra com os resultados obtidos pela análise via CCD, facilitando a escolha da mistura de solventes para análises de amostras complexas (Pereira et al., 2018). As correlações de análises CCD com propriedades químicas dos canabinóides ainda não foram descritas na literatura.

Hazekamp et al. (2005) demonstraram que técnicas que utilizam a radiação ultravioleta (UV), por si só, não são adequadas para distinguir qualitativamente os isômeros CBD e Δ^9 -THC, pois os espectros de energia absorvida por ambos são muito semelhantes. Já a técnica de *Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier* (FTIR), de acordo com a (SWGDRUG, 2005) e (Moffat et al., 2011), permitiu esta distinção por bandas espectrais referentes a grupos funcionais específicos. A técnica de *Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear* (RMN) é comumente utilizada para caracterizar a estrutura de uma substância orgânica. A técnica se baseia em um fenômeno que ocorre com núcleos atômicos que possuem momentos magnéticos e angulares e é analisada pela frequência ressonântica (deslocamento químico, δ) com que o spin do núcleo oscila na presença de um campo magnético, sendo este dependente da vizinhança em que se encontra. A técnica relacionada aos núcleos de hidrogênio (^1H) é a mais conhecida (Kaiser, 2000), e foi utilizada para elucidação das estruturas do CBD e Δ^9 -THC (Mechoulam e Shvo, 1963; Gaoni e Mechoulam, 1964). Técnicas relacionadas aos núcleos de carbonos (^{13}C) também são muito aplicadas, apesar de exigirem um tempo maior de análise devido à menor sensibilidade do elemento. As técnicas bidimensionais (RMN-2D), desenvolvidas posteriormente, permitiram correlacionar núcleos que possuem relação escalar ou espacial, possibilitando um mapeamento estrutural mais preciso da substância (Kaiser, 2000). Além disso, essas técnicas são capazes de contribuir na elucidação de características enantioméricas de uma substância (Maggio et al., 2014). Não foram encontrados dados de RMN-2D sobre o CBD em periódicos especializados, apesar de algumas informações terem sido superficialmente descritas por (Moore et al., 2016).

As análises quantitativas dos canabinóides são comumente conduzidas por técnicas cromatográficas, as quais permitem a separação e detecção de substâncias em diferentes tempos devido a interação com uma fase estacionária. A *Cromatografia a Gás* (CG) opera frequentemente em faixas de temperatura entre 200 e 300 °C, por isso sua utilização só é indicada para analisar canabinóides quando for precedida por uma reação química tornando-os termicamente estáveis (“derivatização”). Sem esta etapa prévia o

CBD e o Δ^9 -THC, por exemplo, serão suscetíveis a reações de isomerização, degradação parcial ou até degradação total (Grijó e Cardozo-Filho, 2017). Com isso, na visão de muitos, a *Cromatografia Líquida* (CL), que pode ser conduzida a temperatura ambiente, é um meio de análise quantitativa viável para canabinóides, já que pode ser conduzida com um simples detector UV e padrões externos (Grijó et al., 2019b-c). Por outro lado, a CG é vantajosa para a análise de terpenos: i) por não ser necessária uma derivatização para eles; ii) e porque há uma grande diferença entre as temperaturas de ebulição dos terpenos e dos canabinóides, evitando assim problemas de co-eluição (Restek, 2016). Logo, escolher um único cromatógrafo para realizar análise de derivados de *Cannabis* é bastante complexo. A CG com Detecção via Ionização de Chama (CG/FID) e a CL/UV são, comumente, os modelos mais simples utilizados. Ambos permitem detectar concentrações de mg/mL, sendo suficientes, na maioria das vezes, para análises de extratos da planta (Brighenti et al., 2017; Mandrioli et al., 2019; Scion, 2021). Uma maior sensibilidade, ng/mL, pode ser obtida quando se acopla algum desses cromatógrafos a um detector de espectrometria de massas (EM). A CG/EM e a CL/EM são comumente utilizadas para analisar traços de canabinóides em amostras animais (plasma, cabelo, urina e etc) (Korać et al., 2020) ou consideradas contaminadas (Grijó e Cardozo-Filho, 2017). Estes equipamentos são consideravelmente mais caros (Wolfender, 2009), porém também se diferenciam por permitirem conduzir análises qualitativas sem a necessidade de gastos com padrões externos (Grijó e Cardozo-Filho, 2017; Grijó e Motta Lima, 2019).

3.1.3 Algumas de suas atividades farmacológicas em destaque atualmente

O uso medicinal da *Cannabis*, em destaque para derivados com concentração de CBD conhecida, tornou-se uma alternativa viável para o tratamento de crianças e adolescentes com epilepsia refratária no Brasil. A epilepsia refratária é diagnosticada quando um paciente continua apresentando crises epilépticas mesmo após ter sido submetido a um tratamento com pelo menos dois dos antiepilépticos descritos no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Epilepsia de 2018. A porcentagem média de pacientes que apresentam esse diagnóstico é de 30 %, sendo, para estes, também comuns, alternativas como o tratamento cirúrgico ou estimulação elétrica do nervo vago (CONITEC, 2021).

Entretanto, o enfoque medicinal de derivados da *Cannabis* não tem se limitado a esse tipo de tratamento. De acordo com uma revisão recente sobre o tema feita pela OMS, tratamentos para dor nas costas, distúrbios do sono, depressão, dor pós-lesão e esclerose múltipla também têm sido bastante comuns (WHO, 2018). Geralmente, a avaliação de novos potenciais farmacológicos é previamente conduzida com linhagens de células *in vitro* por permitir avaliar um grande número de variáveis em um curto período

de tempo. Posteriormente, os resultados positivos são extrapolados para estudos *in vivo* (Grijó et al., 2019c). Nesta mesma revisão a OMS destacou também que estudos clínicos têm demonstrado resultados promissores para o ganho de peso em pacientes com HIV, tratamento de dores neuropáticas e diminuição significativa da deficiência motora e dos escores de dor em pacientes com doença de Parkinson (WHO, 2018).

Atualmente diversos estudos visando potencializar bioativos no combate da recente doença pandêmica causada pelo coronavírus 2019 (COVID-19) têm sido conduzidos previamente *in silico*, ou seja, no âmbito da simulação computacional. A aplicação dessa triagem virtual tem facilitado a elucidação do mecanismo de ação desses ativos, além de proporcionar significativas reduções de custos nas posteriores análises *in vitro* e *in vivo* (Fitriani et al., 2021; Kushwaha et al., 2021). Recentemente, (Nguyen et al., 2021) avaliaram se diferentes canabinóides poderiam inibir a replicação do vírus da COVID-19 *in vitro* e *in vivo*. O CBD apresentou resultado promissor, apesar de não inibir as proteases do vírus essenciais para seu ciclo. Na verdade, segundo os autores, a eficiente ação do CBD está ligada a processos na célula hospedeira como a erradicação da expressão do RNA viral. O estudo menciona ainda que o conhecido potencial anti-inflamatório do bioativo é um forte aliado para tratar alguns dos sintomas gerados pela doença.

A inflamação é a resposta do sistema imunológico a estímulos prejudiciais ao organismo, sendo, portanto, um mecanismo de defesa vital para a saúde. Em um processo inflamatório a região atingida fica avermelhada e quente, devido ao aumento local do fluxo de sangue e demais líquidos corporais. Na área também ocorre o acúmulo de células provenientes do sistema imunológico, como, por exemplo, os leucócitos (Chen et al., 2017). As manifestações da resposta são moduladas por vários mediadores inflamatórios, como citocinas, derivados do ácido araquidônico, óxido nítrico, entre outros. Substâncias que podem interferir na produção ou liberação desses mediadores são importantes porque uma resposta exagerada e descontrolada pode ser prejudicial ao hospedeiro (De Almeida et al., 2018). Quando a restauração celular de uma inflamação aguda não ocorre de maneira eficiente, o quadro clínico pode evoluir para crônico e contribuir para uma variedade de doenças (Chen et al., 2017).

A triagem de muitos fármacos anti-inflamatórios é comumente conduzida *in vivo* avaliando a inibição do edema produzido na pata de uma cobaia, após injeção de um agente flogístico como a carragenina (Winter et al., 1962). O efeito inibitório no edema é obtido quando o fármaco reduz eficientemente a síntese ou liberação de mediadores envolvidos no processo. A avaliação das concentrações de mieloperoxidase (MPO) é frequentemente conduzida de forma paralela ao estudo de inibição do edema, sendo

aferida a partir de uma amostra do tecido da pata do animal onde o edema foi induzido. A MPO é uma enzima presente nos leucócitos que tem a função de catalisar sua ação para diminuir os radicais livres que possam oxidar estruturas celulares e causar danos aos tecidos. Logo, a análise de sua concentração é usada como marcador indireto da migração de leucócitos para o local da inflamação (De Almeida *et al.*, 2018).

Os anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs) são muito utilizados no tratamento de doenças inflamatórias agudas e crônicas, porém podem causar efeitos adversos, como, por exemplo, desconforto gastrointestinal, inibição da agregação plaquetária e toxicidade renal. Assim, a busca por agentes alternativos, como os produtos naturais (bioativos), que tenham efeitos terapêuticos favoráveis e menos efeitos adversos, tem ganhado atenção no tratamento de doenças inflamatórias (De Almeida *et al.*, 2018). Os fitocanabinóides CBD e Δ^9 -THC são exemplos dos muitos bioativos promissores já estudados (Nagarkatti *et al.*, 2009) e que são facilmente obtidos de plantas frescas (Grijó *et al.*, 2019b-c). A ausência de efeitos colaterais do CBD (Carlini e Cunha, 1981; Cunha *et al.*, 1980; WHO, 2018) e sua eficiente atividade o torna um fitocanabinóide em destaque. Um estudo demonstrou que as doses eficientes deste bioativo (Costa *et al.*, 2004) podem ser equiparáveis as do AINE ibuprofeno (IBU) (Wisniewski-Rebecca *et al.*, 2015), sendo assim muito menores do que a de outros bioativos promissores (De Almeida *et al.*, 2018).

Entretanto, apesar das requeridas propriedades farmacológicas, muitos anti-inflamatórios apresentam uma eficiência limitada devido às suas baixas solubilidades em água. A solubilidade do IBU, CBD e Δ^9 -THC, por exemplo, é de apenas, 21,0 (Friuli *et al.*, 2018), 12,6 (Drugbank, 2019) e 2,8 (UNODC, 2009) g/L, respectivamente. Com isso, muitos estudos também são conduzidos visando aumentar a biodisponibilidade destes fármacos, sendo muito comum a análise de carreadores biocompatíveis que permitirão a liberação controlada do ativo (Bizerra e Silva, 2016). A técnica de inibição do edema produzido por inflamação aguda, bem como as concentrações de mieloperoxidase (MPO), também são comumente avaliadas para definir eficiente métodos de complexação de fármacos à carreadores que permitirão a liberação controlada. Comumente, menores doses do ativo necessárias quando carregado potencializa a diminuição de efeitos colaterais (De Almeida *et al.*, 2018).

3.1.4 A liberação controlada como aliada à sua administração oral

A via oral é a mais comum para a administração de fármacos por ser considerada segura e conveniente (Cardenas *et al.*, 2017). A absorção oral de um fármaco é basicamente definida por sua solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal, sendo

estas duas propriedades intrínsecas que os distinguem em quatro classes no *Sistema de Classificação Biofarmacêutico* (SCB) criado por [Amidon et al. \(1995\)](#). O SCB é atualmente aplicado pelas principais organizações de saúde do mundo, como a *Organização Mundial de Saúde* (OMS), a *Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos da América* (FDA), a *Agência Europeia de Medicamentos* (EMA) e a ANVISA ([Arrunategui et al., 2015](#)). O IBU ([Wu e Benet, 2005](#)), o CBD e o Δ^9 -THC ([ErvaBioSciences, 2019](#)) são fármacos que, por exemplo, apresentam baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade intestinal, por isso são classificados na “Classe II” do SCB. Atualmente a ANVISA permite a solicitação para a fabricação e/ou comercialização de medicamentos derivados da *Cannabis* de aplicação oral ou nasal ([ANVISA, 2019c](#)), mas também vem sendo realizados debates científicos em outros países sobre tratamentos de aplicação dérmica (tópica) ([Casiraghi et al., 2020](#); [FDA, 2020](#)).

A solubilidade é um parâmetro termodinâmico que define a quantidade do fármaco que poderá se dissolver em determinado meio ([Cardenas et al., 2017](#)), sendo a biodisponibilidade por via oral de fármacos de baixa solubilidade aquosa um problema muito comum ([Fasinu et al., 2011](#)). A permeabilidade é a propriedade que determina a velocidade com que o fármaco dissolvido passa pela parede intestinal e atinge a circulação sistêmica, sendo este um processo cinético complexo que depende de várias propriedades fisiológicas e fisicoquímicas do fármaco e das propriedades biofísicoquímicas da barreira gastrointestinal ([Cardenas et al., 2017](#)).

A conversão de um fármaco cristalino em sua forma amorfa pode levar a uma maior dissolução e biodisponibilidade deste. Os elevados valores de energia interna e o volume específico do estado amorfo geram um aumento das propriedades termodinâmicas como solubilidade, pressão de vapor, movimento molecular e reatividade química ([Hancock e Zograf, 1997](#)). Os fármacos cristalinos de baixa solubilidade aquosa podem ser dissolvidos em solventes orgânicos adequados, ou seja, em solventes em que possuam alta solubilidade, e depois complexados na forma amorfa em uma matriz biocompatível que servirá como carreador e permitirá vantagens como aumento de biodisponibilidade, bem como liberação prolongada e controlada ([Gomes et al., 2015](#)).

O sistema de liberação controlada, como mostra a [Figura 3](#), permite manter, por um longo período, o nível do fármaco no plasma sanguíneo dentro de sua faixa terapêutica. Isso evita problemas que podem ser ocasionados pelos métodos convencionais de administração, como um nível elevado (toxicidade) ou ineficaz (concentração subterapêutica) do ativo. Além disso, o sistema de liberação controlada pode apresentar vantagens como direcionamento do fármaco a alvos específicos, proteção contra degradação, diminuição do intervalo de dosagem e redução de efeitos

colaterais devido a utilização de uma menor quantidade do princípio ativo, o que gera ainda redução de gastos durante o processo de produção (Bizerra e Silva, 2016).

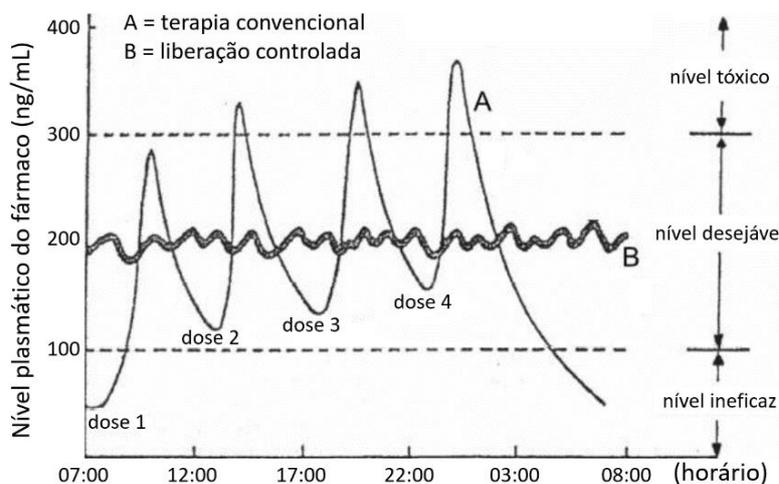
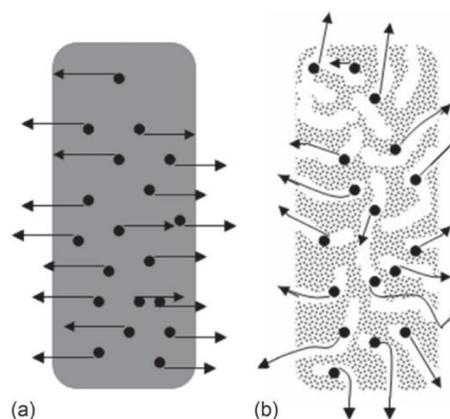


Figura 3 – Comum variação do nível plasmático de um fármaco: A) sistema de liberação convencional; B) sistema de liberação controlada (Bizerra, Silva, 2016) – adaptado).

Os carreadores com o objetivo de proporcionar a liberação controlada de fármacos podem ser diferenciados em homogêneos e heterogêneos. Os carreadores homogêneos são comumente polímeros hidrofílicos biodegradáveis não porosos, sendo os fármacos facilmente dissolvidos através destes (Figura 4a). Nos carreadores heterogêneos os fármacos são difundidos por pequenos poros ou canais (Figura



4b), sendo um exemplo os polímeros que após hidratação formam estas estruturas (Bruschi e Woodhead, 2017).

Figura 4 – Tipos de carreadores utilizados para a liberação controlada de fármacos: a) homogêneo e b) heterogêneo (Bruschi e Woodhead, 2017).

Apesar dos estudos de liberação controlada serem frequentemente conduzidos utilizando carreadores derivados de compostos poliméricos, sejam estes sintéticos ou naturais (Gomes et al., 2015; Bizerra e Silva, 2016), estudos paralelos têm demonstrado também eficientes resultados obtidos a partir de fármacos adsorvidos em carreadores porosos não poliméricos (Miriayala et al., 2017; Yaneva, 2019). Neste caso, estes carreadores biocompatíveis e inertes apresentam as mesmas características descritas das matrizes heterogêneas e a cinética de dessorção do fármaco poderá ser controlada pelas suas interações químicas com o carreador (Munoz et al., 2003) e os tamanhos dos

poros do mesmo (Vallet-Regi *et al.*, 2001). Estes tipos de carreadores têm apresentado também eficientes resultados para o direcionamento do complexo a órgãos específicos (Rudge *et al.*, 2000).

3.2 Carvão ativado: uma alternativa para carrear fármacos

Este tópico traz uma “*Contextualização histórica*” sobre o carvão ativado, desde suas utilizações mais conhecidas até, por exemplo, a recente abordagem de utilizá-lo como carreador de fármacos. Em seguida, apresenta uma revisão sobre a “*Composição dos precursores lignocelulósicos*” que comumente são utilizados na produção desse material. As etapas de produção do mesmo, ou seja, a “*Carbonização*” e a “*Ativação*”, bem como a etapa alternativa de “*Pré-tratamento com fungos*”, também são descritas neste tópico. Por fim, são apresentados “*Alguns detalhes sobre a adsorção e dessorção*” e especificamente sobre a “*Fissorção de nitrogênio*”.

3.2.1 Contextualização histórica

O uso do carvão ativado (CA) pela humanidade tem apenas um breve histórico, porém, de acordo com registros, o uso do carvão em si remonta a tempos antigos. A utilização do carvão vegetal é datada desde a *Idade da Pedra*, em 30000 AEC. Os registros dessa época demonstram a utilização do carvão como pigmento de cor para desenhar ilustrações em cavernas. Em 8000 AEC o carvão vegetal passou a ser utilizado também para a redução de minérios metálicos (Jäger *et al.*, 2010), devido sua temperatura de combustão ser maior do que a da madeira. Os egípcios e sumérios, por volta de 3750 AEC, passaram a utilizá-lo como combustível doméstico devido à ausência de fumaça (Mestre e Carvalho, 2017). A aplicação do carvão vegetal na medicina foi primeiramente descrita pelos egípcios em 1550 AEC, para adsorver vapores odoríferos de feridas putrefativas e do intestino (Dabrowski, 2001). O valor terapêutico do carvão foi mais tarde explorado pelos gregos e romanos no tratamento de intoxicações em que o efeito dependeria da adsorção de toxinas ou outras substâncias, sendo descritos, respectivamente, por volta de 430 AEC e 50 EC. Nessa mesma época também se difundiu a eliminação do sabor e odor da água após a filtração em carvão e areia (Mestre e Carvalho, 2017).

As propriedades específicas de adsorção do carvão foram primeiramente observadas em 1773, no tratamento de gases, e mais tarde, em 1786, através de experimentos sobre a descoloração de soluções. Em 1822, demonstrou-se que as capacidades de descoloração dos carvões dependiam do material de origem, do processamento térmico e do tamanho das partículas do produto acabado, sendo assim produzido o primeiro CA por uma combinação de processos térmicos e químicos. Os

carvões ativados (CAs) foram produzidos em larga escala a partir do início do século XX, porém apenas sob a forma pulverizada e utilizado principalmente para descoloração de fluidos das indústrias química e alimentícia. O uso de gases venenosos na *1ª Guerra Mundial* preparou o caminho para o desenvolvimento e a produção em larga escala do CA granular. Desde então a produção foi sendo comumente direcionada para o tratamento de águas, recuperação de solventes e purificação do ar ([Çeçen e Aktaş, 2011](#)), sendo estes obtidos principalmente a partir de precursores renováveis, seguros, baratos e disponíveis em grande quantidade, como os resíduos agroindustriais e ossos de animais ([Alkurdi et al., 2019](#)).

A utilização do CA como um meio poroso para carrear fármacos por via oral vem sendo avaliada nas últimas décadas ([Kannisto e Neuvonen, 1984](#); [Roivas e Neuvonen, 1992](#)). A aplicação vem sendo aprimorada devido ao desempenho não satisfatório de carreadores porosos de sílica, sendo isto derivado da baixa capacidade de carregamento, alto custo e possíveis riscos de toxicidade ([Miriyyala et al., 2017](#)). Os recentes estudos de adsorção e dessorção do ibuprofeno (IBU) a CAs ([Miriyyala et al., 2017](#)); ([Yaneva, 2019](#)) foram coerentes ao apresentar um aumento de biodisponibilidade e possibilidade de liberação controlada do fármaco. Testes biológicos utilizando o complexo não foram descritos em literatura, sendo apenas observado análises de citotoxicidade *in vitro* para o carreador puro (CA) ([Miriyyala et al., 2017](#)). A literatura demonstra que diferentes materiais carreadores foram descritos para carrear canabinóides ([Bruni et al., 2018](#)), porém ainda não foi estudado a complexação destes à CAs.

3.2.2 Composição dos precursores lignocelulósicos

Os CAs utilizados como carreadores de fármacos, até o momento, foram produzidos a partir de diferentes materiais lignocelulósicos ([Miriyyala et al., 2017](#)); ([Yaneva, 2019](#)). A possível desintegração dos CAs obtidos de precursores ósseos submetido a condições ácidas ([Ali et al., 2017](#)) pode ser a razão para sua não utilização visando essa aplicabilidade, já que se tornariam inapropriados devido o trajeto pelo estômago humano. Um material lignocelulósico é constituído basicamente de celulose, hemicelulose e lignina, sendo os teores destes diretamente relacionados as características do CA produzido ([Dorez et al., 2014](#)).

A celulose é um polissacarídeo formado exclusivamente por glicose, sendo sua fórmula empírica $(C_6H_{10}O_5)_n$. A glicose é uma hexose, ou seja, um monossacarídeo que possui seis carbonos, sendo especificamente do grupo poli-hidroxialdeído (aldose). Os monossacarídeos possuem configurações devido à característica ópticas (D = dextrogiros; L = levogiros) e são encontrados predominantemente na forma cíclica, visto que a reação de ciclização intramolecular os torna mais estáveis. Em solução aquosa

cada monossacarídeo se apresenta em quatro isômeros chamados de tautômeros, sendo as estruturas cíclicas pentagonais chamadas de furanose e as hexagonais de piranose (Figura 5). O carbono da carbonila (C₁) é chamado de anomérico e possuem duas configurações possíveis, anomero α quando o grupo OH ligado a ele está abaixo do plano do anel e anomero β quando está projetado acima (Motta, 2005).

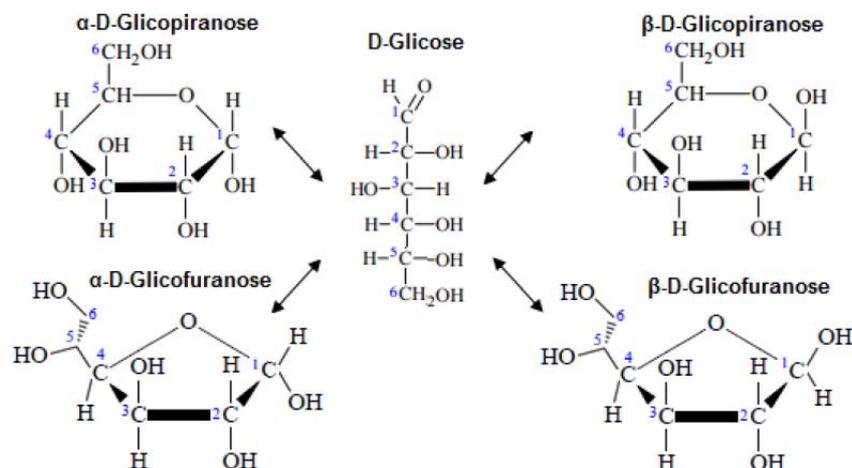


Figura 5 – Estruturas cíclicas e acíclica da D-Glicose (Motta, 2005 – adaptada).

A estrutura da celulose é definida por ligações β -1,4-glicosídicas do monossacarídeos β -D-glicopirranose, formadas pelo carbono anomérico (C₁) de um monossacarídeo com o grupo hidroxila do carbono C₄ de outro (Motta, 2005). A estrutura linear e fibrosa estabelece múltiplas ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxilas das distintas cadeias superpostas de glicose (Figura 6). Isto as torna impenetráveis a água e, portanto, insolúveis, originando fibras compactas que constituem a parede celular dos vegetais (Jiang *et al.*, 2014; French, 2017).

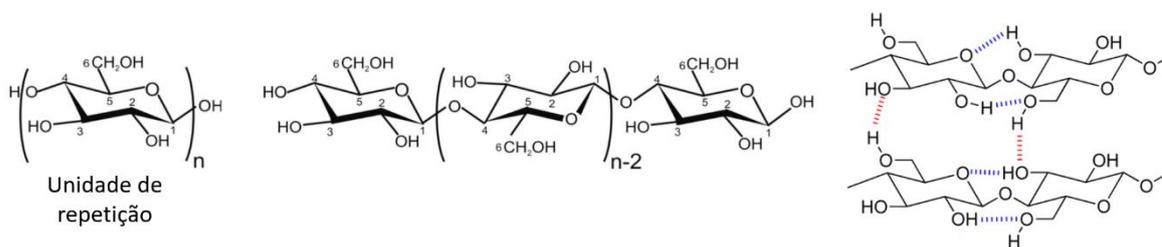


Figura 6 – Celulose: estrutura genérica evidenciando sua unidade de repetição e suas ligações de hidrogênio intramoleculares (em azul) e intermoleculares (em vermelho) (Jiang *et al.*, 2014; French, 2017).

As hemiceluloses são biopolímeros heterogêneos, sendo seus monômeros compostos principalmente de pentoses (xilose e/ou arabinose) e/ou hexoses (manose, glicose e/ou galactose). A composição desta difere de acordo com o tipo de matéria-prima, sendo o xilano o componente mais comum. Os xilanos são heteropolissacarídeos

que possuem um esqueleto homopolimérico composto por unidades de β -D-xilopiranosose com ligações glicosídicas 1,4, sendo suas ramificações mais comuns moléculas de arabinose, ácido glicurônico e ácido acético (Figura 7). As hemiceluloses possuem pesos moleculares menores do que o da celulose, e podem ser dissolvidas em soluções básicas. Elas preenchem os vazios ao redor de fibrilas de celulose, fornecendo acoplamento às ligninas e influenciando na agregação de celulose durante a formação da parede celular (Hayes *et al.*, 2017).

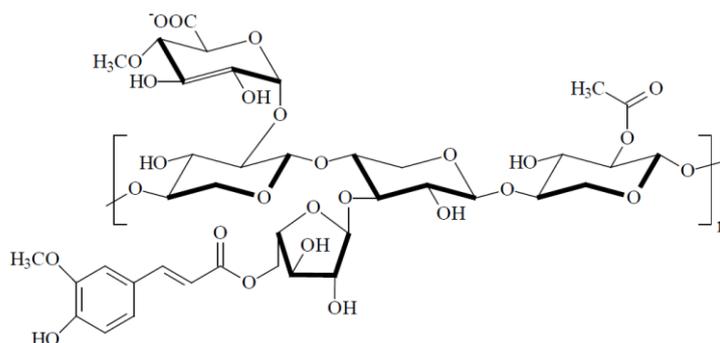


Figura 7 – Hemicelulose: estrutura genérica do xilano, seu principal componente (Vargas, 2010).

A lignina é um heteropolímero amorfo que se liga aos grupos hidroxila dos polissacarídeos celulose e hemicelulose, conferindo rigidez às plantas. A sua estrutura química é sintetizada por radicais de álcoois fenilpropanóicos, também chamados de monolignóis. Os três principais monolignóis são o álcool sinapílico (Figura 8a), o álcool coniferílico (Figura 8b) e o álcool p-cumarílico (Figura 8c). Existem vários outros monolignóis que podem gerar radicais em baixas concentrações propícias para a formação da lignina, sendo a proporção destes diferente para cada precursor. Os radicais formados são unidos por fortes ligações carbono-carbono e aril-éter, como mostra a Figura 8d (Hayes *et al.*, 2017).

A complexa estrutura da lignina e seu alto peso molecular a torna uma macromolécula insolúvel (Thomsen *et al.*, 2005). A característica hidrofóbica desta é importante para as plantas, já que permite que transportem nutrientes e metabólitos por grandes distâncias/alturas. Os vegetais primitivos, como fungos, algas e líquens, não são lignificados (Saliba *et al.*, 2001). A natureza hidrofóbica da lignina também restringe o acesso de enzimas aos polissacarídeos, evitando a decomposição da parede celular das plantas (Hayes *et al.*, 2017). Além disso, seus compostos fenólicos proporcionam proteção contra o ataque de patógenos e consumo por insetos e mamíferos herbívoros (Thomsen *et al.*, 2005).

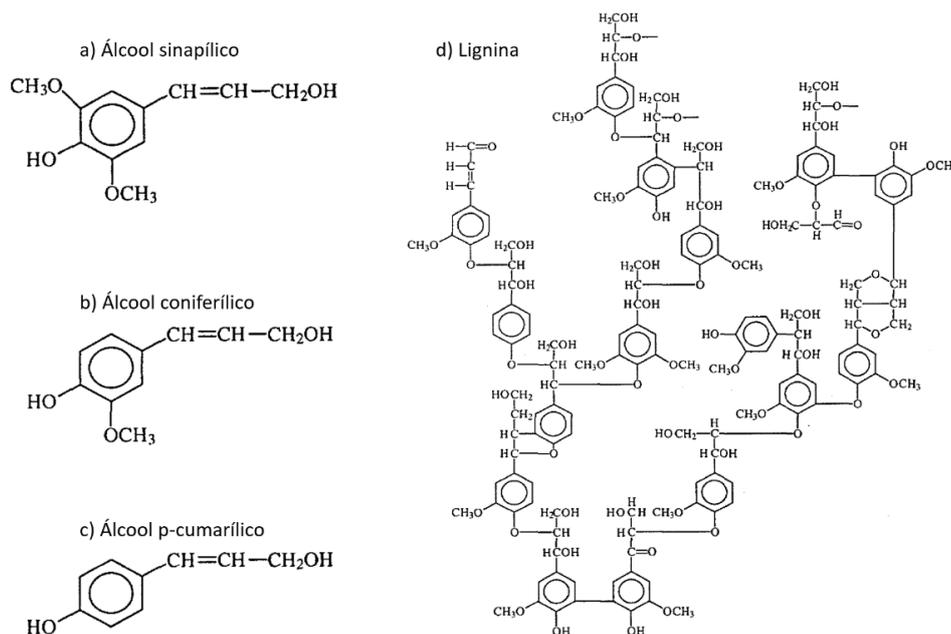


Figura 8 – Estrutura química da lignina e seus principais componentes: a, b, c) álcoois felipropanóicos; d) exemplo de lignina (Bjerre e Schmidt, 1997).

3.2.3 Carbonização

A produção do carvão ativado é comumente conduzida por uma etapa primária chamada de carbonização, que visa à eliminação de materiais voláteis e elementos que não constituem diretamente o arranjo carbônico do precursor (Basta *et al.*, 2009). Frequentemente esta etapa é conduzida sob atmosfera inerte e recebe o nome de pirólise, porém, nos últimos anos, a carbonização hidrotérmica, ou hidrocarbonização, também tem gerado interesse no campo da ciência dos materiais (Titirici *et al.*, 2007). Os produtos desses processos apresentam seus poros obstruídos por resíduos como substâncias betuminosas, alcatrões e naftas, sendo denominados respectivamente como carvão e hidrocarvão. Durante a carbonização produz-se predominantemente macroporos, fazendo com que o material não tenha um aumento significativo da porosidade e área superficial (Chowdhury *et al.*, 2013).

Os parâmetros importantes que podem determinar a qualidade e o rendimento do carvão obtido por pirólise são: taxa de aquecimento, temperatura final, fluxo de gás de arraste e natureza da matéria prima (Ioannidou e Zabaniotou, 2007). (Dorez *et al.*, 2014) demonstraram que a carbonização dos componentes puros das matérias primas lignocelulósicas apresentam comportamento significativamente distintos, como mostra a Figura 9. De acordo com os pesquisadores estas diferenças estão relacionadas às estruturas químicas de cada um destes componente.

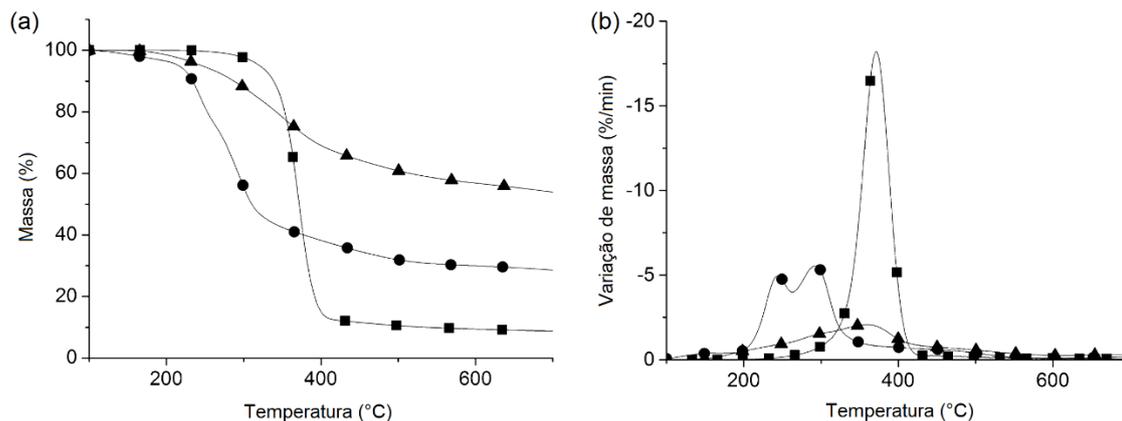


Figura 9 – Análises termogravimétricas da degradação de componentes lignocelulósicos (■ celulose, ● xilano (“hemicelulose”) e ▲ lignina) em atmosfera de nitrogênio (N₂) a 10 °C/min até 600 °C. Temperatura versus: a) massa; b) taxa de perda de massa (Dorez *et al.*, 2014).

Dorez *et al.* (2014) afirmam que o pico estável da taxa de perda de massa da celulose por pirólise ocorre devido a um rápido processo de despolimerização por clivagem e formação do levoglucosano, sendo assim proporcionado um baixo rendimento de carvão quando submetida a altas temperaturas. O xilano possui uma menor estabilidade térmica devido ao baixo grau de polimerização, porém a repolimerização aleatória dos radicais ácido acético e furfural produzidos, durante a degradação, proporciona um maior rendimento de carvão quando submetido as mesmas condições. Já a degradação da lignina ocorre dentro de uma faixa ainda maior de temperatura e a carbonização a altas temperaturas gera rearranjos e condensações das estruturas aromáticas, levando a obtenção de um rendimento de carvão ainda maior. De acordo com (Andrade e Carvalho, 1998), para a um alto rendimento de carvão o precursor lignocelulósico deve possuir, além de baixo teor de cinzas, alto teor de carbono fixo, sendo este muitas vezes diretamente relacionado a um alto teor de lignina. Entretanto, como demonstrado na Tabela 3, Dorez *et al.* (2014) descrevem que há uma complexa relação entra o rendimento de carvão a ser produzido e a composição do precursor lignocelulósico utilizado.

De acordo com Andrade e Carvalho (1998) a presença de um elevado teor de substâncias de natureza aromática, como extrativos e lignina, dá como consequência um carvão com maior densidade e maior resistência em termos de propriedades físico-mecânicas. Entretanto, (Shen *et al.*, 2013) descrevem que teores relativamente altos de carvão podem ser obtidos a partir de precursores com baixo teor de lignina e alto teor de celulose devido a repolimerização do levoglucosano. Além disso, de acordo com Giudicianni *et al.* (2013), um carvão derivado de uma matéria prima com alto teor de ce-

Tabela 3 – Composição e teor de carvão obtido de materiais lignocelulósicos (Dorez et al., 2014).

Matéria Prima	Composição (%)					Carvão (%)	
	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Solúveis	Cinzas	C _R	C _E
Celulose	100	0	0	0	0	9,5	-
Xilano	0	“100”	0	0	0	30,0	-
Lignina	0	0	100	0	0	56,9	-
Algodão	89,7 ± 0,4	1,0 ± 0,3	2,7 ± 0,2	6,3 ± 0	0,3 ± 0,1	18,8	10,7
Linho	80 ± 1	13 ± 1	2 ± 1	4 ± 1	1 ± 1	22,5	13,6
Cânhamo	74,1 ± 0,5	7,6 ± 0,3	2,2 ± 0,2	15,8 ± 0,4	0,3 ± 0,1	29,1	10,9
Bagaço/cana	51,8 ± 0,4	27,6 ± 0,8	10,7 ± 0,4	9,1 ± 0,9	0,8 ± 0,1	16,1	20,1
Bambu	54,6 ± 0,6	11,4 ± 0,6	21,7 ± 0,3	10,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1	26,2	22,6
Coco	51,3 ± 1,1	11,7 ± 0,7	30,7 ± 0,4	5,7 ± 0,4	0,6 ± 0,1	29,5	26,5

* Carvão obtido em atmosfera inerte de N₂ sob taxa de aquecimento de 10 °C/min até 600 °C

* C_R = rendimento real; C_E = rendimento estimado pela composição

lulose pode apresentar uma porosidade significativamente maior. Logo, observa-se que para uma análise industrial adequada é necessário avaliar cuidadosamente e simultaneamente as duas etapas de produção do CA, ou seja, a carbonização e, também, a ativação.

O processo hidrocarbonização tem atraído interesse nos últimos anos devido a características como elevada eficiência para obtenção de carvão (hidrocarvão) a baixa temperatura de síntese, processo ecoamigável devido ao uso somente água no processo (Falco et al., 2011), abundantes grupos funcionais remanescentes na superfície do produto e a não geração de grandes quantidades de gases nocivos (Sevilla et al., 2011). As características físico-químicas do hidrocarvão dependem dos parâmetros de operação da reação, ou seja, da razão biomassa/água, temperatura e tempo de reação, bem como do material precursor. A complexidade de uma biomassa exigirá maiores tempos e temperaturas durante a hidrocarbonização (Berge et al., 2011). A hidrocarbonização é comumente conduzida utilizando água subcrítica em temperaturas entre 180 e 260 °C (Poerschmann et al., 2015).

3.2.4 Ativação

O processo de ativação é comumente aplicado a um carvão ou hidrocarvão previamente produzido, porém é também observado a realização dessa etapa simultaneamente com a carbonização (El-Hendawy et al., 2008; Macia-Agullo et al., 2004). O aumento da característica adsorvente do material será então conduzido pelo processo de ativação física ou ativação química (Figueiredo et al., 1999) utilizando, normalmente, temperaturas entre 600 e 1100 °C (Bansal e Goyal, 2005), porém a

utilização simultânea destas metodologias, ou seja, ativação física e química, também é descrita na literatura (Hu e Srinivasan, 2001). Além do tipo de ativação, os parâmetros mais estudados durante o processo é a temperatura e o tempo, bem como a razão entre o agente ativador e o precursor (Vargas, 2010).

O CA e alguns outros compostos não cristalinos derivados essencialmente de carbono são comumente considerados como carbono amorfo (Figura 10a) (Ho e Lau, 2015), o que os diferenciam das centenas de estruturas cristalinas de carbono puro, chamadas de alótropos de carbono, como o grafite, o grafeno, o fulereno e o diamante (Hoffmann *et al.*, 2016). Os grupos químicos presentes na superfície dos CAs serão uma consequência do tipo de precursor utilizado e o método de ativação aplicado (Figura 10b), sendo oxigênio, hidrogênio, nitrogênio, fósforo e enxofre os heteroátomos mais comuns (Chiang *et al.*, 2002; Michailof *et al.*, 2008). A caracterização destes grupos químicos é comumente realizada por *Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier* (FTIR) e a estrutura amorfa da superfície do CA é comumente identificada por *Microscopia Eletrônica de Varredura* (MEV) (El-Hendawy *et al.*, 2008).

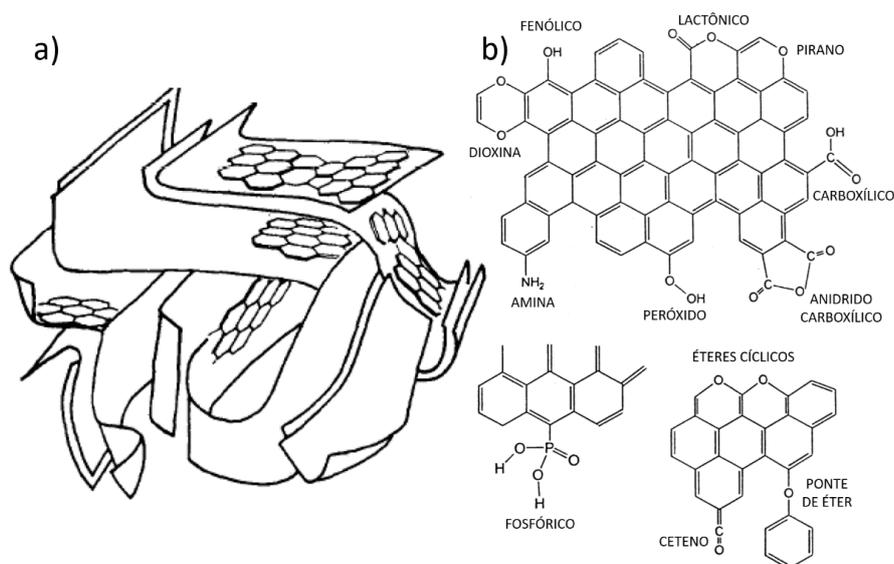


Figura 10 – Carvão ativado: a) representação de sua estrutura amorfa (Aznar, 2011); b) heteroátomos e grupos funcionais comumente encontrados em sua superfície (Brennan *et al.*, 2001).

A ativação física, também chamada gaseificação, é o processo pelo qual o precursor, que geralmente foi carbonizado em uma etapa prévia, desenvolve uma estrutura porosa pela ação do tratamento térmico sob um fluxo adequado de vapor de água, CO₂ ou ar atmosférico, usado individualmente ou combinados (El-Hendawy *et al.*, 2008). Algumas vantagens da ativação física são o menor impacto ambiental e o menor custo, quando comparado aos métodos de ativação química (Sakaray e Ramirez, 2014).

Na ativação química a etapa de impregnação com o reagente químico ocorrerá ao material lignocelulósico, quando conduzida em uma única etapa, e ao carvão (ou hidrocarvão), quando conduzido em duas etapas. O reagente químico, também chamado agente ativador, atua como um desidratante que influencia o aparecimento dos poros devido a inibição de formação do alcatrão (El-Hendawy *et al.*, 2008). Alguns exemplos de agentes ativantes comumente utilizados são: cloreto de zinco ($ZnCl_2$), ácido fosfórico (H_3PO_4), ácido sulfúrico (H_2SO_4) e hidróxido de potássio (KOH) (Ceyhan *et al.*, 2013). A ativação utilizando reagentes ácidos comumente geram grupos carboxílicos, lactonas, lactol e fenólicos nas superfícies dos CAs, enquanto que a ativação a partir de bases pode levar à formação de grupos pironas, cromenos, éteres, carbonilas, dicetonas e quinonas (Lopez-Ramon *et al.*, 1999; Montes-Moran *et al.*, 2004).

A ativação química pode apresentar algumas vantagens em relação à ativação física, como: (i) menores temperaturas de ativação (El-Hendawy *et al.*, 2008), (ii) menores tempos de ativação (Nowicki *et al.*, 2008), (iii) maiores rendimentos, (iv) obtenção de maiores áreas superficiais e (v) melhor controle nas dimensões dos poros. As principais desvantagens relacionadas ao processo de ativação química são o uso de produtos altamente corrosivos e a necessidade de uma etapa extra de lavagem do produto final para remoção das impurezas geradas durante o processo (Lozano-Castello *et al.*, 2007).

3.2.5 Pré-tratamento com fungos

O desenvolvimento controlado de fungos em materiais lignocelulósicos antes do processo de produção do CA vem possibilitando a obtenção destes com áreas superficiais significativamente maiores do que as obtidas por métodos convencionais, ou seja, apenas pelos processos de carbonização e ativação. A área superficial do adsorvente é potencializada devido ao crescimento das hifas que liberaram enzimas capazes de romper a parede celular do material lignocelulósico, como mostra a Figura 11 (Wang *et al.*, 2019).

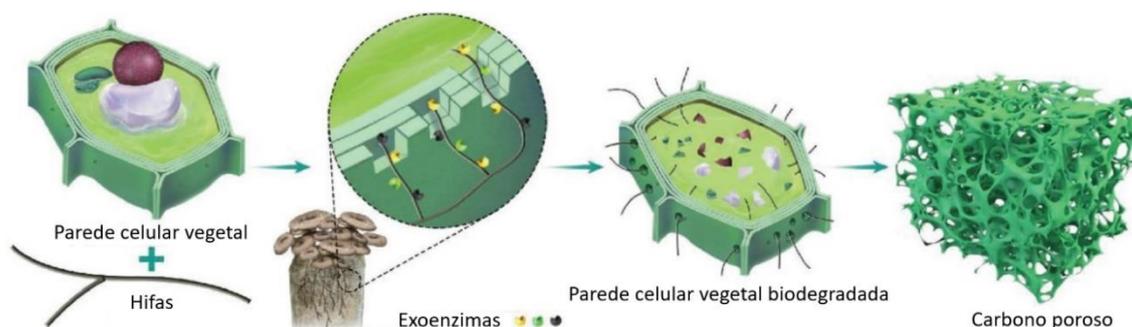


Figura 11 – Mecanismo de criação de poros em materiais lignocelulósicos por hifas de fungos (Wang *et al.*, 2019 – adaptada).

O cultivo é geralmente conduzido utilizando alguma espécie do grupo “fungos da podridão branca” (*white-rot fungi*) (Wang et al., 2011b; Wang et al., 2019), que são os microrganismos mais eficientes para a degradação da lignina. De acordo com (Pérez et al., 2002) a difícil degradação da lignina ocorre devido sua complexidade estrutural, alto peso molecular e insolubilidade, sendo as enzimas peroxidases e laccases intimamente envolvidas neste processo. O grupo “fungos da podridão marrom” (*brown-rot fungi*) também possuem excelente capacidade de degradar materiais lignocelulósicos, apesar de menos explorados em estudos (Presley et al., 2018).

Os estudos de Wang et al. (2011b) e Wang et al. (2019) demonstraram aumento da área superficial do carvão ativado obtido a partir de resíduos de tabaco, cascas de sementes de algodão, cascas de grãos de arroz e caules de milho, indicando assim uma ampla abrangência à precursores lignocelulósicos. As diferenças de morfologia e área superficial dos adsorventes obtidos por Wang et al. (2019), a partir da pirólise em duas etapas de cascas de sementes de algodão com e sem pré-tratamento de fungos “*Pleurotus*”, são mostradas na Figura 11. De acordo com os autores é possível observar que a estrutura formada pela quebra de parte da lignina pelo conjunto de hifas (micélio) favoreceu a carbonização da matriz gerando poros abundantes, bem como facilitou a posterior penetração do ativador na estrutura. O carvão obtido após a primeira etapa de pirólise a 500 °C sob atmosfera de argônio (Ar) e sem pré-tratamento (Figura 12a – 2,7 m²/g) apresentou características significativamente menos qualificadas para a adsorção do que o carvão obtido utilizando a matriz pré-tratada (Figura 12b – 579 m²/g). Os autores também compararam a ausência e presença do pré-tratamento do precursor para obtenção de carvões ativados, sendo estes obtidos por uma segunda etapa de pirólise até 800 °C sob atmosfera oxidante de ar e impregnação química (KOH, sendo ativante/carvão = 4/1). Os resultados demonstraram que o carvão ativado obtido sem pré-tratamento apresentou área superficial (2829 m²/g) significativamente menor do que o carvão obtido com pré-tratamento (Figura 12c – 3439 m²/g).

O gênero *Pleurotus* é composto por espécies de “fungos da podridão branca” comestíveis e seu desenvolvimento controlado é comumente realizado pelo cultivo em estado sólido (CES), utilizando substratos lignocelulósicos. Alguns estudos de otimização do CES de *Pleurotus* para a obtenção da parte comestível dos fungos demonstram que correções de pH e de nutriente no meio podem ser necessárias (Moda, 2003). O CES de outros gêneros de “fungos da podridão branca”, como o *Pycnoporus*, *Trametes* e *Phanerochaete*, demonstram resultados ainda mais eficientes para a decomposição de lignina (Sahu e Pramanik, 2015), porém não foi encontrado estudos para a obtenção de carvão ou CA com alta porosidade utilizando um pré-cultivo com estes microrganismos.

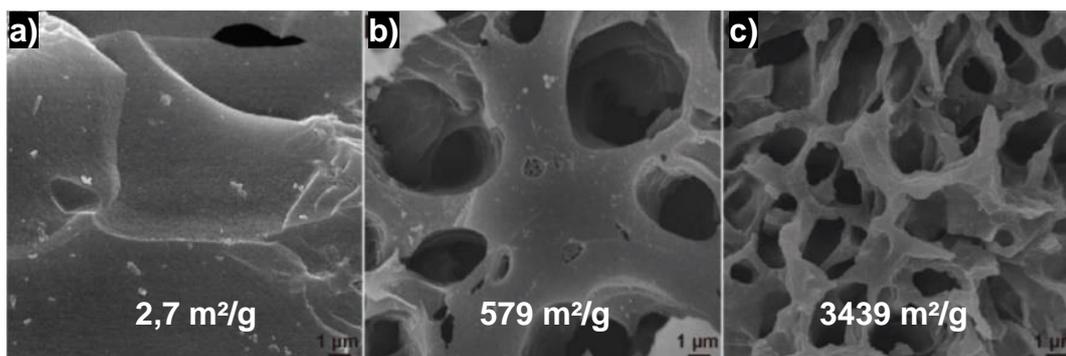


Figura 12 – Comparação das morfologias e áreas de superfície de adsorventes obtidos com e sem pré-tratamento fúngico: a) carvão – após 1ª etapa pirolítica a 500 °C sem pré-tratamento; b) carvão – após 1ª etapa pirolítica a 500 °C com pré-tratamento; c) carvão ativado obtido com pré-tratamento e após 2ª etapa pirolítica a 800 °C (Wang et al., 2019 – adaptada).

O cultivo submerso (CS) de *Pleurotus* em materiais lignocelulósicos também pode ser aplicado para a potencialização de poros em adsorventes (Wang et al., 2011b), apesar de (Wang et al., 2019) terem demonstrado o potencial poroso do “resíduo do CES”, desenvolvido pelas hifas, para a produção de CA. O CES é geralmente mais eficiente que o CS para a degradação da lignina (Sahu e Pramanik, 2015). O resíduo do CES (material lignocelulósico + hifas) é comumente direcionado à adubação orgânica, devido ao conteúdo em nitrogênio e outros minerais provenientes do micélio (Moda, 2003), ou, a produção de biogás, devido a facilitação para a digestão anaeróbia (Perez-Chavez et al., 2019). Outra área importante nessa linha de pesquisa é a produção de enzimas por técnicas de purificação e isolamento, onde geralmente se aplica o CES seguido de uma lavagem adequada para recuperação das importantes enzimas (Inácio et al., 2015).

3.2.6 Adsorção e a dessorção

A eficiência da liberação controlada de um fármaco carregado por CA será delimitada pelos fenômenos de adsorção e dessorção (Yaneva, 2019). De maneira geral, a adsorção é definida pela transferência de substâncias de um fluido para a superfície de um sólido, e o inverso, ou seja, a liberação das substâncias adsorvatadas do adsorvente, é a dessorção (Bansal e Goyal, 2005). Para a liberação controlada de fármacos a adsorção é comumente conduzida com solventes que possuam grande capacidade de solubilizá-los, mas a dessorção é em fluidos gastrointestinais, ou seja, de base aquosa e com baixa capacidade de solubilização específica. O etanol (EtOH) vem sendo comumente utilizado no processo de adsorção, já que possui uma toxicidade menor do que solventes (Miriayala et al., 2017; Yaneva, 2019) como o hexano (Wang et al., 2011a; Horcajada et al., 2004). As análises por FTIR são comumente conduzidas nestes

estudos, já que permitem comprovar a adsorção e a dessorção do fármaco ao adsorvente (El-Hendawy *et al.*, 2008).

Os fenômenos de adsorção e dessorção serão afetados por fatores como, temperatura, pH, força iônica, concentração inicial do adsorvato, velocidade de agitação, razão mássica adsorvato/adsorvente, tamanho das partículas e área superficial do adsorvente (Bansal e Goyal, 2005; Ho, 2006). Ambos são classificados de acordo com o tipo de interação entre o adsorvente e o adsorvato, podendo ser física (fisissorção), que não é específica, ou química (quimissorção), que é específica. A fisissorção ocorre principalmente por forças eletrostáticas ou forças de Van der Waals, ou seja, as moléculas encontram-se fracamente ligadas na superfície do adsorvente, podendo formar tanto monocamadas como multicamadas, e é um processo mais facilmente reversível. Na quimissorção acontecem transferências de elétrons equivalentes a formação de ligações químicas, fazendo com que o adsorvato tenha uma interação mais forte com a superfície do adsorvente e consequentemente sob uma única camada (Theydan e Ahmed, 2012).

A relação de equilíbrio entre a concentração do adsorvato na fase fluida (gás ou líquido) e no adsorvente (sólido), a uma determinada temperatura, é chamada de isoterma de adsorção (Rouquerol *et al.*, 1994). A capacidade do CA carrear um fármaco é definida pela análise da isoterma líquido-sólido, já que o adsorvato está presente em uma solução com um solvente orgânico adequado (Miriayala *et al.*, 2017; Yaneva, 2019). Entretanto, a isoterma gás-sólido é também importante já que permite elucidar características fundamentais do adsorvente. Esta caracterização é definida pela quantidade de moléculas de um gás, comumente o nitrogênio (N₂), adsorvidas ao adsorvente, sendo assim também chamada de fissorção de nitrogênio (Rouquerol *et al.*, 1994).

3.2.7 Fissorção de nitrogênio

A fissorção de nitrogênio fornecerá dados característicos do adsorvente como volume e tamanho de poros, bem como sua área superficial. O termo "poro" vem do termo grego *porod*, que significa passagem, sendo então classificado como uma cavidade que é conectada pela superfície externa do sólido e permite a passagem de fluidos para dentro ou para fora através do material. Segundo a *União Internacional de Química Pura e Aplicada* (IUPAC) os poros dos CAs podem ser classificados em função do tamanho, como: macroporosos (diâmetros maiores a 50 nm), mesoporosos (diâmetros entre 2 e 50 nm) e microporosos (diâmetros inferiores a 2 nm) (Sing *et al.*, 1985; Rouquerol *et al.*, 1994). Os microporos contribuem para a maior parte da área superficial que proporciona alta capacidade de adsorção para moléculas de dimensões pequenas,

tais como gases e solventes comuns. Os mesoporos são importantes para a adsorção de moléculas grandes tais como fármacos e suportam uma quantidade maior de adsorvato por poro. Os macroporos são de pouca importância devido à grande relação entre o tamanho dos poros e a dimensão das moléculas de adsorvato, a ponto de serem tomados como dutos de transporte e considerados como porosidade de superfície externa. A proporção relativa dos tipos de poros de um CA varia consideravelmente de acordo com o precursor e processo de fabricação (Wu *et al.*, 2005).

A concentração do adsorvato, neste caso, é geralmente dada em porcentagem molar ou pressão (McCabe *et al.*, 1993), já que pode ser calculada a partir da pressão relativa na qual os poros são preenchidos com um líquido proveniente da condensação de um gás (Khalili *et al.*, 2000). Por isso, é importante conhecer o fenômeno de condensação capilar, que pode ser definido como sendo a condensação de um líquido nos poros de um sólido a uma pressão relativa P/P_0 menor que a unidade (Butt *et al.*, 2013). A presença de uma superfície sólida que sirva como ponto de nucleação é necessária para que o vapor condense em uma pressão abaixo de sua pressão de saturação. Em um poro, o filme de adsorvente formado nas paredes serve como tal. Portanto, a condensação do vapor é dependente da formação desse filme (Adamson, Gast, 1997). No processo inverso de evaporação, a passagem do líquido para a fase vapor ocorre espontaneamente a partir do menisco e a diminuição da pressão do sistema (Khalili *et al.*, 2000).

As isotermas de adsorção gás-sólido (Figura 13) são classificadas pela IUPAC em seis tipos. O tipo I, é também conhecido como isoterma de Langmuir, apesar de não indicado, e é uma característica de adsorventes microporosos, baseando-se na aproximação gradual da adsorção limite que corresponde à monocamada completa. A isoterma do tipo II corresponde à formação de multicamadas, representando um adsorvente não poroso ou de poros relativamente grandes. A isoterma do tipo III é relativamente rara e representa que a adsorção inicial é lenta em virtude de forças de adsorção pouco intensas. Na isoterma do tipo IV, observa-se um salto correspondendo à histerese (retardo ou atraso) que está associado com o fenômeno de condensação capilar, característico de materiais mesoporosos. A isoterma do tipo V é incomum e está relacionada com a isoterma do tipo III, nas quais a interação entre adsorvente e adsorvato é fraca. E a isoterma do tipo VI é indicativa de um adsorvente não poroso com uma superfície quase uniforme e bastante rara, onde a adsorção ocorre em etapas (Sing *et al.*, 1985).

A isoterma de Brunauer-Emmett-Teller (BET) é o método comumente utilizado para determinação da área superficial de um adsorvente. Este método foi desenvolvido

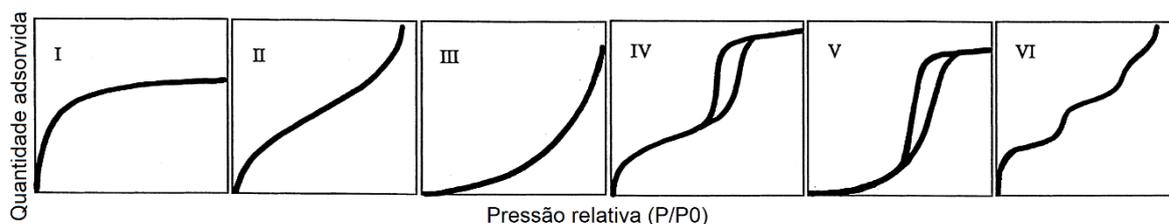


Figura 13 – Tipos de isoterma de adsorção gás-sólido (Donohue e Aranovich, 1998) – adaptada).

com o objetivo de relacionar a área superficial com os valores obtidos a partir das isotermas. A isoterma é dada pela quantidade de gás adsorvida (n_m) em uma determinada pressão relativa, sendo consideradas as seguintes simplificações: i) a adsorção ocorre em multicamadas independentes e imóveis, ii) o equilíbrio é alcançado para cada camada e iii) exceto na primeira camada, a adsorção é aproximadamente igual à condensação. A equação BET é comumente aplicada na sua forma linear descrita pela Equação 1 (Rouquerol *et al.*, 1994).

$$y = a + b \cdot x \therefore \frac{(P/P_0)}{n_m \cdot \left(1 - \frac{P}{P_0}\right)} = \frac{1}{C \cdot n_m^a} + \frac{(C-1) \cdot P}{C \cdot n_m^a \cdot P_0} \quad (1)$$

onde: n_m^a é a quantidade adsorvida na monocamada completa e C é uma constante que é dependente do tipo de isoterma.

A área superficial BET (A_{BET}) é geralmente expressa em metros quadrados por grama ($m^2 \cdot g^{-1}$) e pode ser calculada como demonstra a Equação 2, onde N_A é a constante de Avogadro ($6,02 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$), a_m é a área ocupada por uma molécula de N_2 ($0,162 \text{ nm}^2$) e m é a massa (g) de adsorvente utilizada durante a análise (Rouquerol *et al.*, 1994). A faixa de linearidade é restrita a uma parte limitada da isoterma e usualmente não ultrapassa a faixa de P/P_0 entre 0,05 e 0,30 (Sing *et al.*, 1985).

$$A_{BET} = \frac{n_m^a \cdot N_A \cdot a_m}{m} \quad (2)$$

O volume total de poros (V_T) é obtido a partir da quantidade adsorvida no ponto de saturação, ou seja, em uma pressão relativa de 0,99. O volume de microporos (V_μ) pode ser determinado a partir da equação de Dubinin-Radushkevich (Equação 3), onde B é uma constante estrutural, β é o coeficiente de similaridade e T é a temperatura. Logo, um gráfico de $\log V_T$ contra $\log^2(P_0/P)$ permite a determinação do volume de microporos. Embora a medida de volume adsorvido (V_T) em cada pressão relativa é utilizada nos cálculos, o intercepto da reta obtida com os dados da isoterma à baixas pressões ($P/P_0 < 0,04$) é que promoverá uma estimativa adequada do volume dos microporos. Desta forma

o volume de mesoporos (V_m) poderá ser aproximado mediante a diferença entre o volume total de poros (V_T) e o volume de microporos (V_μ) (Khalili et al., 2000; Sing et al., 1985).

$$\log(V_T) = \log(V_\mu) - B \cdot \left(\frac{T}{\beta}\right)^2 \cdot \log^2\left(\frac{P_0}{P}\right) \quad (3)$$

A distribuição do tamanho de poros é um parâmetro muito importante para o estudo da estrutura porosa, já que está intimamente relacionado à área total do sólido. O diâmetro do poro (D_p) pode ser estimado a partir do conceito de raio hidráulico (r_h), que relaciona o volume total (V_T) e a área superficial (A_{BET}). Para um poro longo e cilíndrico de comprimento L e raio r , sendo $r \ll L$, o diâmetro estimado dos poros será expresso pela Equação 4 (Sing et al., 1985).

$$r_h = \frac{V_T}{S_{BET}} = \frac{(\pi \cdot r^2 \cdot L)}{2 \cdot \pi \cdot r \cdot L} = \frac{r}{2} = \frac{D_p}{4} \therefore D_p = \frac{4 \cdot V_T}{A_{BET}} \quad (4)$$

A partir de diferentes métodos matemáticos pode-se obter a distribuição de tamanho dos poros, sendo estes definidos a partir da curva de dessorção (Adamson e Gast, 1997). O método Barret-Joyner-Halenda (BJH) é utilizado no cálculo da distribuição do tamanho dos poros na região mesoporosa (Khalili et al., 2000), enquanto o método Horvath-Kawazoe (HK) é adequado para a região microporosa (Dombrowski et al., 2001).

3.3 Cânhamo industrial: a *Cannabis* com baixo teor psicotrópico

Como citado previamente, a utilização medicinal da *Cannabis* não foi a única que se destacou ao longo da história. "Registros antigos da utilização de suas fibras" e sementes também foram bastante comuns. Estas duas vertentes de aplicação definiram o uso industrial da planta na Convenção Única de Entorpecentes de 1961, permitindo a criação de "Leis específicas em diferentes países" para o seu uso não psicotrópico. O cânhamo industrial se destacou nas últimas décadas para a produção de fibras e/ou sementes, mas é o recente e valioso mercado medicinal que tem prosperado nos últimos anos. Por isso, torna-se importante saber "Algumas de suas características de cultivo" que podem ser otimizadas para a produção dos seus diferentes produtos, ou seja, flores, fibras e sementes. É importante notarmos também que o cânhamo e outras fibras naturais baratas vêm se apresentando como alternativas viáveis para as caras e não renováveis fibras sintéticas em diversas aplicações (Gedik e Avinc, 2020). Além disso, o processo de "Separação mecânica de suas fibras" acaba gerando uma quantidade significativa de material residual. Este resíduo, também chamado de estopa, pode ser utilizado como precursor para a obtenção de carvões ativados com altas áreas superficiais (Williams e Reed, 2004; Reed e Williams, 2004; Rosas et al., 2009; Sun et al., 2016); Vukcevic et al., 2017). Este tópico sobre o cânhamo industrial também traz uma

“Análise comparativa de carvões ativados obtidos de suas fibras” e apresenta uma breve discussão sobre “As suas fibras no atual comércio e indústria nacional”.

3.3.1 Registros antigos da utilização de suas fibras

As descrições da utilização de fibras de cânhamo pela humanidade são evidentes a partir de 10000 AEC, durante o final da última era glacial, quando, ao mesmo tempo as fibras vegetais de linho e algodão, bem como a lã, fibra animal, passaram a seres utilizadas para a produção de têxteis. O tecido se apresentou como um material prático, confortável e que permitia de maneira adequada a transpiração, por isso foi gradativamente substituindo as roupas feitas com peles de animais. A demanda por fibras têxteis foi um aspecto fundamental da revolução agrícola, incentivando a domesticação de plantas e animais (Gilligan, 2021). As fibras têxteis também foram muito utilizadas na pré-história para a fabricação de cordas, podendo esta aplicação ser ainda mais antiga do que a produção de tecidos (Turner e Van De Griend, 1996). O desenvolvimento de técnicas para a produção de cordas resistentes foi fundamental para a construção de pirâmides no Egito por volta de 2600 AEC, sendo as fibras de papiro amplamente utilizadas (Wendrich, 2008) e as fibras de cânhamo descritas em alguns estudos (Russo, 2007).

Na China, onde registros da domesticação de *Cannabis* são comuns (Li, 1973), trapos (tecidos descartados) de cânhamo e linho foram utilizados na produção das primeiras folhas de papel. Posteriormente os chineses aperfeiçoaram a produção utilizando fibras cruas destas e outras plantas, bem como cascas de árvores. A evidência mais antiga de papel encontrada é constituída de fibras de cânhamo e remonta de uma época entre 140 e 87 AEC. Após sua descoberta o papel se tornou um meio importantíssimo para a difusão da escrita, junto com outros materiais que já vinham sendo utilizados como fibras laminadas de papiro e peles de animais devidamente tratadas (pergamino). O processo de produção de papel se diferenciou da laminação do papiro, de origem egípcia, pela necessidade de alteração das propriedades do precursor durante a maceração ou desintegração (Tsuen-Hsuin, 1985).

Na Europa a técnica de manufatura do papel foi introduzida pelos mulçumanos no século XII (Bloom, 2017), porém uma demanda significativa só surgiu com a disseminação da imprensa em meados do século XV (Tsuen-Hsuin, 1985). Nesta época houve grandes incentivos para o cultivo de cânhamo no continente, mas a matéria prima era utilizada diretamente apenas para produção de cordas e velas de embarcações (Grandes Navegações, séculos XV e XVI) (Robinson, 1999) e não para a produção de papel. Até o final do século XVIII, a única matéria-prima utilizada para fabricação de papel

na Europa eram trapos principalmente de cânhamo ou linho, ou, em menor quantidade, de algodão. A primeira fase da *Revolução Industrial* (1760 – 1860) aumentou significativamente a demanda do papel (Van Roekel Jr, 1994) e por isso a descoberta da ação branqueadora do cloro sob fibras vegetais, em 1774, foi muito importante para uma eficiente obtenção do papel branco (Kamoga et al., 2013). Apesar disso, mesmo com a ação do cloro, só a partir de trapos brancos era possível produzir papéis brancos, e, com isso, as fibras de algodão, por fornecer uma matéria-prima mais adequada (Bruckle, 2009), tiveram seu cultivo impulsionado após o desenvolvimento de uma eficiente máquina, em 1793, que permitia separar suas fibras de suas sementes (Roe, 1871). O cânhamo ainda se manteve como produto mais comercializado no mundo até 1830 (Conrad, 1995), mas seu cultivo foi diminuindo significativamente a partir dessa época (Amaducci et al., 2015). Mais tarde, mesmo com um maior teor de lignina, as árvores passaram a ser a matéria prima utilizada para a produção do papel devido ao desenvolvimento de processos para separar a celulose da lignina, inicialmente mecânico, em 1840 (Sjöström, 1993), e, posteriormente químico, utilizando derivados do enxofre, a partir de 1857 (Biermann, 1993). Em 1861 havia sido criado o primeiro separador mecânico de fibras de cânhamo, ao qual foi sendo aprimorado ao logo dos anos (“decorticador”) (Ranalli e Venturi, 2004), mas o início da produção de fibras sintéticas, por volta de 1880, também contribuiu para uma diminuição do cultivo e utilização do cânhamo em todo o mundo (Schwarz e Kovačević, 2017).

No Brasil, em 1783, a *Coroa Portuguesa* inaugurou a *Real Feitoria do Linho Cânhamo*, com o objetivo de se livrar da dependência inglesa para a obtenção de fibras necessárias para a produção de utensílios fundamentais em embarcações (De Oliveira, 2014). Testes iniciais de cultivo, por volta de 1747, foram conduzidos no Rio de Janeiro, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, mas a *Feitoria* foi instalada no Rio Grande do Sul (Menz, 2005; Johann, 2010) e suas atividades permaneceram até 1824 (Bento, 1983); (Aquino, 2007). A questão é, será que a palavra cânhamo aqui realmente se refere a um derivado de *Cannabis*? De acordo com (De Oliveira, 2008), a *Figura 14a* representa um “exemplar linho cânhamo” cultivado na *Feitoria*. Logo, é possível observar que a planta em questão possui características semelhantes ao gênero *Linum* (*Figura 14b*), popularmente conhecido como linho, e não com o gênero *Cannabis* (*Figura 14c*), popularmente conhecido como cânhamo quando trata-se de um cultivo para a obtenção de fibra. Por outro lado, (Carvalho, 1995) cita que entre 1785 e 1880 a *Coroa* emitiu diversos ofícios à agricultores para incentivar o cultivo de *Cannabis* para a produção de fibra e também distribuiu sementes e folhetos com instruções de cultivo.

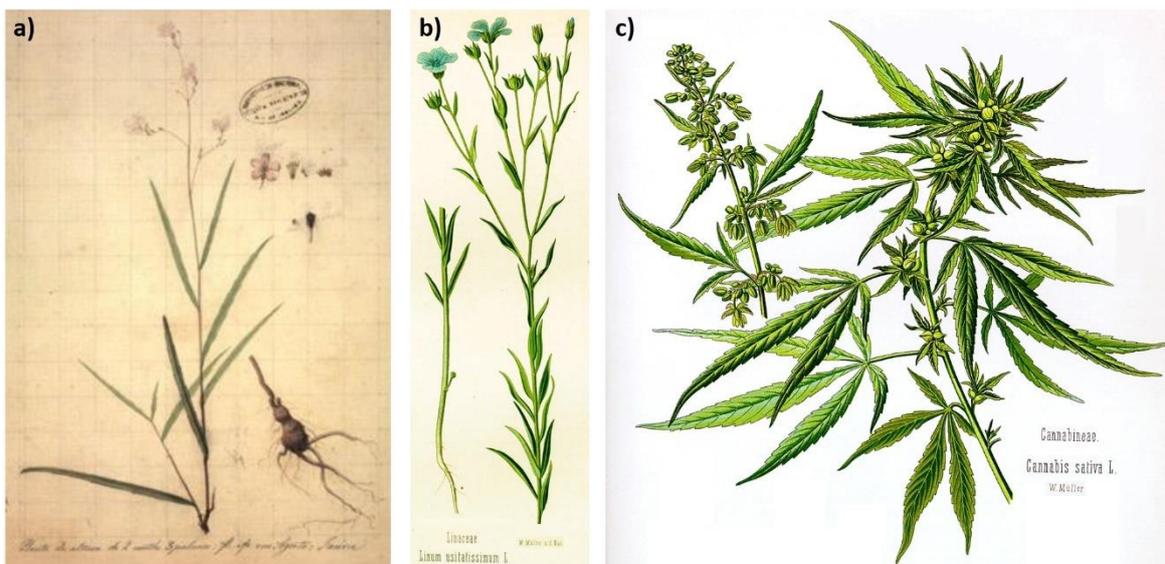


Figura 14 – Comparação entre registros ilustrativos de plantas cultivadas para a obtenção de fibras: a) “exemplar linho cânhamo cultivada na *Real Feitoria Linho Cânhamo*” do Brasil (De Oliveira, 2008); b) espécie *Linum usitatissimum* L., popularmente conhecido como linho; c) espécie *Cannabis sativa* L., popularmente conhecida como cânhamo (Köhler, 1887).

Da Rosa (2018) descreve que instituições de Pernambuco, Rio de Janeiro e São Paulo cultivaram *Cannabis* no Brasil para a produção de fibras nas primeiras décadas do século XX (Figura 15), tendo, inclusive, sido gerado uma patente de variedade da planta pela empresa carioca. Entretanto, estudos posteriores comprovaram que o “cânhamo braziliensis”, patenteado no Rio de Janeiro, era do gênero *Hibiscus* (BMI, 1907); (Krapovickas e Fryxell, 2004), e não do gênero *Cannabis*. Os cultivos em São Paulo descritos por Da Rosa (2018) também podem ter sido mal interpretados. A autora descreve que no estado foi primeiro avaliado a comparação entre o cultivo de “cânhamo braziliensis” e “cânhamo da Índia”, mas este, por sua vez, também é uma forma popular que se refere a espécie *Crotalaria juncea* (DOU, 2008). Por fim, tem-se poucos detalhes nos registros encontrados sobre o cultivo em Pernambuco (Noemia, 2008). O Tópico 3.3.6 apresenta espécies de plantas que são popularmente conhecidas como cânhamo, mesmo não sendo derivadas do gênero *Cannabis*.

A fibra de cânhamo (*Cannabis sativa*) foi considerada como um material estratégico de guerra para os Estados Unidos, pois apresentava-se como melhor alternativa para atender o rápido aumento da demanda da marinha, exército e indústrias essenciais. A indústria apresentou uma breve expansão nos EUA durante a 1ª Guerra Mundial (1914 – 1918) (Wilsie et al., 1944), bem como no Canadá após esse período, mas, de maneira geral, tornou-se muito menos competitiva para a fabricação de corda,



Figura 15 – Registros fotográficos de cultivos de fibras alternativas no Brasil na primeira década do século XX: a,b) J. Knight & Perini – Rio de Janeiro – 1904~1905; c) Instituto Agrônômico de Campinas – São Paulo – 1905~1910 (Da Rosa, 2018). Nota: conversão de cor via site playback.fm/colorize-photo.

vestuário e papel na década de 30. Em 1938, o cultivo de *Cannabis* foi taxado nos EUA e passou a ser ilegal no Canadá (Cherney e Small, 2016) e no Brasil (Brasil, 1938). O ano de 1939 foi marcado pelo auge da industrialização do papel no Brasil, tendo sido impulsionada pelo governo a partir do interesse de estudos com fibras alternativas que não precisassem ser importadas (Margalho, 2008). O *Hibiscus* foi um dos gêneros destacados na época (Da Rosa, 2018), mas não foram encontrados registros mencionando a *Cannabis*. Uma iniciativa privada de industrialização em São Paulo apresentou, também em 1939, uma recorde na produção de fibras de *Hibiscus* (Da Rosa, 2018). O cultivo de cânhamo estava quase que extinto nos EUA e Canadá na época em que se iniciou a 2ª Guerra Mundial (1939 – 1945), mas sua produção foi novamente incentivada durante o período. Após o conflito, a produção de cânhamo foi praticamente eliminada nestes países (Cherney e Small, 2016).

3.3.2 Leis específicas em diferentes países

A *Convenção Única de Entorpecentes* (CUE), de 1961, é a base do atual regime internacional de controle de drogas e suas formas de intervenção e controle procuram limitar a posse, uso, comércio, distribuição, importação, exportação, fabricação e

produção das mesmas a fins exclusivamente médicos e científicos, bem como combater o tráfico destas por meio da cooperação internacional para dissuadir e desencorajar os narcotraficantes. Esta Convenção não se aplica “ao cultivo da planta de cannabis destinado exclusivamente a fins industriais (fibra e semente) ou hortícolas” (Brasil, 1964). Logo, é necessário entender que o cânhamo, ao longo da história, além de uma fonte de fibras de alta qualidade, foi uma planta provedora de sementes para a alimentação humana desde pelo menos 500 AEC (Clarke e Merlin, 2013). Além disso, que os fins hortícolas citados são, por exemplo, para o uso como “quebra vento” (do inglês: “wind screen”), ou seja, uma linha de plantas altas com o objetivo de reduzir a incidência do vento. Essas exceções foram definidas em termos de como a planta poderia ser utilizada e não por sua composição em canabinóides, o que, por consequência, deixou uma saída para o cultivo ilícito da mesma (Curran et al., 2016). Com isso, após elucidação da estrutura química destes bioativos (Mechoulam e Shvo, 1963; Gaoni e Mechoulam, 1964) e inclusão do Δ^9 -THC na *Lista de Substâncias Psicotrópicas das Nações Unidas* (UN, 1971), regras diferenciando o fenótipo de planta, como “droga” e “não droga (fibra)”, foram criadas.

A primeira classificação foi criada por (Fetterman et al., 1971), ao relacionar os teores dos principais fitocannabinóides psicotrópicos (Δ^9 -THC e o canabinol (CBN)) e não psicotrópicos (CBD): $(\Delta^9\text{-THC} + \text{CBN})/\text{CBD}$. Segundo os autores o valor maior do que 1 indicaria uma planta com fenótipo de “droga” e um valor menor ou igual a 1 indicaria um fenótipo de “fibra”, ou seja, plantas cultivadas para a produção de fibras de alta qualidade. Atualmente, é observado que esta classificação não é mais adotada, já que, por exemplo, plantas com teor de CBD maior do que a soma dos teores de Δ^9 -THC e CBN podem não apresentar fibras de boa qualidade (Grijó et al., 2019b). Posteriormente foram criadas classificações mais adequadas, que consideravam limites destes ativos e não a razão entre eles, como mostra a Tabela 4.

Tabela 4 – Algumas das classificações criadas para definir fenótipos de *Cannabis*.

Fenótipo	Small e Beckstead (1973)		Brenneisen e Kessler (1987)	Demeijer et al. (1992)	
	Δ^9 -THC (%)	CBD (%)	Δ^9 -THC (%)	Δ^9 -THC (%)	CBD (%)
Droga	> 0,3	< 0,5	> 1,0 - 20,0	≥ 0,5	< 0,5
Intermediária	> 0,3	≥ 0,5	> 0,3 - 1,0	≥ 0,5	≥ 0,5
Não droga ou fibra	≤ 0,3	≥ 0,5	≤ 0,3	< 0,5	≥ 0,5

Nas décadas após a Convenção, mesmo com estas definições, o cultivo do cânhamo industrial diminuiu nos países da Europa e houve um pequeno aumento na China, onde a cultura das fibras e sementes, como vimos, são milenares (Clarke, 1999); (Fao, 2016). Só após regulamentações específicas, a partir de 1993, descrevendo o cânhamo como plantas com menos de 0,3 % em massa de Δ^9 -THC (Decorte, 2011), foi

que a produção europeia pode novamente se equiparar a chinesa (FAO, 2016). A China chegou a proibir o cultivo de cânhamo em 1998 devido a contestações internacionais sobre pequenas produções direcionadas a obtenção de resina, porém as iniciativas de erradicação pelo governo foram brandas (Clarke, 1999). Já em 2010, a província chinesa Yunnan foi a primeira a regulamentar o cânhamo como plantas com menos de 0,3 % em massa de Δ^9 -THC (GR, 2010). Em 2017 a província chinesa de Heilongjiang foi a segunda a fazer esta regulamentação e, com o objetivo de se tornar a maior base industrial de cânhamo na China e até mesmo no mundo até 2020, lançou o *Plano de Ação Especial de Três Anos para o Cânhamo Industrial* (USSEC, 2018). Atualmente espera-se que a província de Jilin seja a terceira a regulamentar o cultivo de cânhamo na China (He, 2019).

A *Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura* (FAO) dispõe de dados estatísticos relacionados ao cultivo de cânhamo em vários países, aos quais demonstram que nas últimas décadas houve um aumento significativo do cultivo de cânhamo no mundo (FAO, 2016). Por algum motivo a FAO não inclui a produção de países como o Canadá, que desde 1998 já possui regulamentação e produção significativa como plantas com menos de 0,3 % de em massa de Δ^9 -THC (Canadá, 1998). Além disso, nos últimos anos, a ascensão da cultura é ainda mais significativa já que outros países que já regularizaram leis próprias ainda não são contabilizados pela FAO. O cultivo nos estados australianos foi regulamentado em diferentes datas e o teor limite mássico de Δ^9 -THC varia em 0,35 ou 1,00 % (FSANZ, 2019). O Uruguai regulamentou o cânhamo como plantas com menos de 1,0 % em massa de Δ^9 -THC (Uruguai, 2013) e os Estados Unidos da América (EUA) aprovaram a *Lei da Agricultura de 2018* ("2018 Farm Bill"), que inclui o cânhamo como uma cultura agrícola com menos de 0,3 % de Δ^9 -THC (Usa, 2018; FDA, 2019).

3.3.3 Algumas de suas características de cultivo

O cultivo de cânhamo para a obtenção de fibras, em específico, é normalmente anual, apresentando plantas eretas ("sem" ramificações) que podem alcança 5 m em 4 a 6 meses (Bocsa e Karus, 1998). A taxa de crescimento pode chegar a 11 cm/dia (Merfield, 1999), demonstrando um alto potencial de absorção do dióxido de carbono atmosférico. O cultivo requer uma baixa quantidade de irrigação (Averink, 2015) e fertilizantes (Boyce, 1912), sendo sua densidade (plantas/m²) e fenótipo importantes para definir o produto de interesse (Fassio et al., 2013). As variedades utilizadas são comumente monoicas (Grabowska et al., 2009; Branca et al., 2017) plantando-se aproximadamente 120 plantas/m² (Fassio et al., 2013). Por outro lado, o cultivo para a

obtenção de sementes, que também pode ser feito com essas variedades (Grabowska et al., 2009; Branca et al., 2017), é normalmente conduzido com uma densidade de 30 plantas/m² (Fassio et al., 2013). As plantas monoicas eram naturalmente obtidas em condições desfavoráveis, porém foram bastante difundidas após a 2^a Guerra Mundial por possibilitar colheitas mais uniformes (Berger, 1969; Blade et al., 1999; Unodc, 2008). O cultivo com produção simultânea de fibras e sementes também pode ser conduzido, porém com menor qualidade. Não se tem registro do uso de herbicidas para o cultivo dedicado a fibras, porém estes são tradicionalmente aplicados para cultivos menos densos como para a produção de sementes (Fassio et al., 2013).

O cânhamo tradicionalmente utilizado para a produção de fibra e/ou semente geralmente apresenta baixa quantidade de resina, mas com a característica de ter um teor de CBD ($\leq 3,5$ %) maior do que o de Δ^9 -THC (Demeijer et al., 1992). Entretanto, graças a técnicas de reprodução com seleção de variedades, a obtenção de plantas fêmeas com teores de CBD > 15 % e de Δ^9 -THC < 1 já é possíveis (Mudge et al., 2018). É importante notar que o desenvolvimento de plantas híbridas pode também ser feito a partir de uma terceira espécie chamada *Cannabis ruderalis*, identificada no século XX por (Janischevsky, 1924), que raramente é cultivada por si só e possui característica de resistir a climas mais frios e ser capaz de florescer independente da incidência de luz (popularmente chamadas de “automáticas”) (Gloss, 2015). Este contexto torna cada vez mais atraente o cultivo do cânhamo industrial visando flores fêmeas para a obtenção de CBD (Cherney e Small, 2016), a partir de uma densidade de aproximadamente 10 plantas/m² (Fassio et al., 2013). Para isso, é necessário que o país interessado na industrialização além das fibras e sementes crie regras seguindo as definições da CUE de 1961 (Brasil, 1964). Alguns estudos mostram alternativas que não visam a produção otimizada de resina, a partir de eliminação de plantas masculinas: i) colher sementes previamente maturadas (Cherney e Small, 2016) fornece inflorescências residuais com quantidades significativas de CBD (Nissen et al., 2010); ii) fazer a colheita das plantas antes do início da formação das sementes pode fornecer de 70 a 85 % de caules (fibras) e inflorescências com CBD (Bertoli et al., 2010).

3.3.4 Separação mecânica de suas fibras

O cultivo de cânhamo direcionado para obtenção de fibras de alta qualidade é comumente submetido, após a colheita, a separação mecânica das fibras. A separação pode ser realizada utilizando caules frescos (Jiang et al., 2014) ou caules que foram submetidos previamente a um processo microbiano para a quebra das ligações químicas e remoção da pectina (Jankauskiene e Gruzdeviene, 2013). O cânhamo, assim como

linho, juta, rami e outras plantas, possuem em seu caule dois tipos de fibras: a *fibra externa*, macia e flexível, e a *fibra interna*, dura e rígida. A *fibra externa* também é chamada de *fibra liberiana*, ou, do inglês, *bast fiber*, e possui um maior valor agregado, enquanto a fibra interna é também chamada de *hurd* ou *shiv*, como mostra a [Figura 16a](#) (Ferro et al., 2014). Na verdade, como mostra a [Figura 16b](#), veremos mais adiante que comumente a fibra externa é diferenciada em primária e secundária. (Small e Marcus, 2002) demonstram que plantas do fenótipo “*não droga/fibra*” possuem caules com um maior espaço oco centralizado, ou seja, com menos *hurd* (“madeira”), uma vez que isso permite que mais energia seja direcionada para a produção de *fibra externa* ([Figura 2](#)).

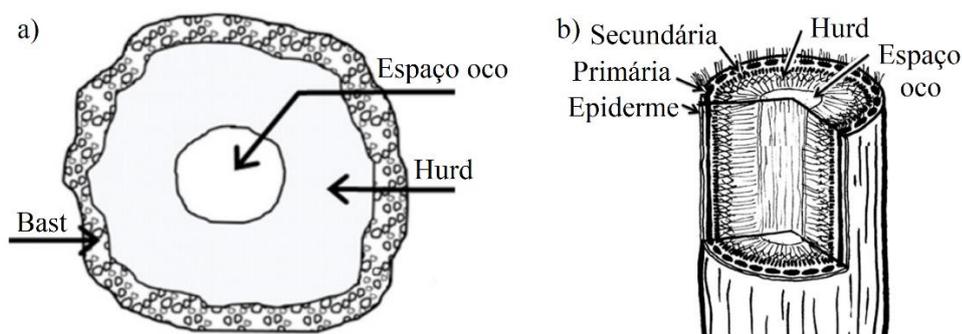


Figura 16 – Ilustrações identificando diferentes partes do caule de cânhamo: a) seção transversal (Ferro et al., 2014); b) seção longitudinal (Chandra et al., 2017).

Attard et al. (2018) demonstraram que o material particulado (*poeira*) perdido durante o processo mecânico de separação dos diferentes tipos de fibras contém um teor de CBD significativo. Neste mesmo sentido observa-se que os equipamentos de processamento de caules de cânhamo vêm sendo aperfeiçoados para o aproveitamento desse material particulado, também denominado de *microfibra verde* (CGT, 2019) como mostra a [Figura 17](#).

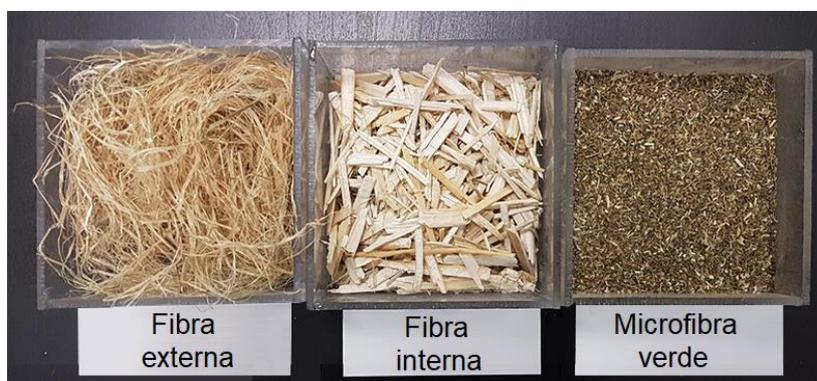


Figura 17 – Distintos materiais fibrosos obtidos do caule de cânhamo (CGT, 2019 - adaptada).

A Tabela 5 apresenta algumas das distintas características físico-químicas entre as *fibras externas* e as *fibras internas* de cânhamo. As *fibras externas* são direcionadas geralmente para a indústria têxtil e de compósitos poliméricos de alta resistência, enquanto as *fibras internas* para o uso como matéria prima para materiais de construção (Gedik e Avinc, 2020) e forragem animal (Bambi et al., 2018 ; Stevulova et al., 2018).

Tabela 5 – Diferenças físico-químicas entre as *fibras externas* e as *fibras internas* de cânhamo.

Tipo de diferença	Parâmetro	Externa (<i>bast</i>)	Interna (<i>hurd</i>)
Física Vignon et al. (1995)	Comprimento (μm)	5000-55000	200-600
	Diâmetro (μm)	20-40	10-30
	Espessura da parede (μm)	5-10	1-2
Química Morin-Crini et al. (2018)	Celulose (%)	57-77 %	40-48 %
	Hemicelulose (%)	9-14 %	18-24 %
	Lignina (%)	5-9 %	21-24 %

As *fibras externas* são comumente espadeladas e retalhadas antes de serem processadas, ou seja, sofrem um processo prévio de alisamento mecânico, como mostra a Figura 18. Após esse processo as *fibras externas* utilizadas são separadas em *fibras externas primárias*, também chamadas de *fibras longas*, e *fibras externas secundárias*, também chamadas de *estopa* (Sisti et al., 2018).



Figura 18 – Processo de separação das *fibras externas* em *primárias* e *secundárias* (Sisti et al., 2018 – adaptada).

Snegireva et al. (2015) demonstraram que o comprimento médio das fibras de *estopa* ($7600 \pm 700 \mu\text{m}$) é, como se esperava, menor que o das *fibras longas* ($17500 \pm 1600 \mu\text{m}$). Neste recente trabalho estatístico os pesquisadores comprovaram que o comprimento das *fibras longas* varia de 5000-55000 μm e observaram que o comprimento das fibras de *estopa* variam entre 5000-35000 μm . Além disso, que o diâmetro médio dos respectivos tipos de fibras é de $29,5 \pm 1,3$ e $1,9 \pm 0,6 \mu\text{m}$. Com isso, sabe-se que as estopas possuem uma resistência à tração inferior ao das fibras longas e

comumente são utilizadas para fins menos nobres (Chandra et al., 2017). A Figura 19 mostra em detalhes, por análises em microscópio, o menor diâmetro das fibras de estopa, que estão localizadas entre as *fibras longas* e as *fibras hurd*, bem como a estrutura abaixo do *hurd* chamada de *medula* (Fernandez-Tendero et al., 2017).

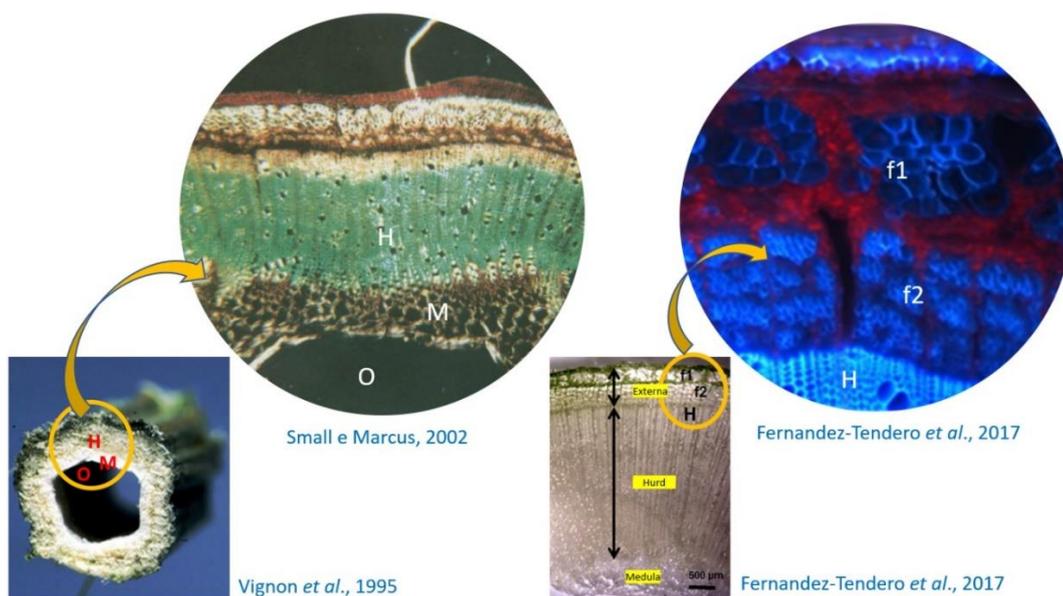


Figura 19 – Identificação detalhada dos diferentes tipos de fibras do caule: fibras longas (f1), estopas (f2), hurd (H), medula (M) e espaço oco (O).

Além das matérias-primas mencionadas, ou seja, aproximadamente 15,9 % de *fibra externa primária*, 4,6 % de *fibra externa secundária* (estopa), 46,5-61,5 % de *fibra interna* (hurd) e 18-33 % de *microfibra verde* (Attard et al., 2018; USDA, 2000), o caule de cânhamo inteiro também vem sendo direcionado, quando fresco e maduro, para a produção de extratos com CBD. As indústrias que adotam essa alternativa (HempMeds, 2019; ENDOCA, 2019) têm a vantagem de enfrentar menos dificuldades burocráticas durante as etapas do processo produtivo, porém a desvantagem de estarem trabalhando com uma matriz que possui baixo teor do bioativo (Corroon e Kight, 2018). Alguns dos primeiros medicamentos contendo CBD autorizados para serem importados pela ANVISA proviam de “caules maduros de cânhamo”, por exemplo (ANVISA, 2015b).

3.3.5 Análise comparativa de carvões ativados obtidos de suas fibras

A Tabela 6 apresenta detalhes de alguns estudos sobre a obtenção de carvão ativado a partir de fibras de cânhamo, sendo esta subdividida em nove tipos de metodologias. Dos trabalhos analisados a morfologia dos CAs produzidos por (Williams e Reed, 2003; 2004) não são apropriadas para o carregamento de fármacos, visto que os materiais produzidos foram em forma de manta e não pulverizada.

Tabela 6 – Exemplos de metodologias aplicadas para a produção de carvão ativado a partir de fibras de cânhamo (*Cannabis sativa* L.) em 1 ou 2 etapas.

	Ativação física (CO ₂ , vapor, ar, mistura)		Ativação química (H ₃ PO ₄ , ZnCl ₂ , NaOH, KOH, NaClO ₂)		Ativação química/física (impregnante/oxidante)				
	Pirólise inerte	Hidrocarbonização	Pirólise inerte	Hidrocarbonização	Pirólise inerte	Impregnação Pirólise	Impregnação Pirólise	Impregnação Pirólise	
1									
2	Pirólise	Pirólise	Impregnação Pirólise inerte	Impregnação Pirólise inerte	Impregnação Pirólise	Impregnação Pirólise	Impregnação Pirólise	Impregnação Pirólise	
E	TIPO 1	TIPO 2	TIPO 3	TIPO 4	TIPO 5	TIPO 6	TIPO 7	TIPO 8	TIPO 9
		[a,b]		[c,d,e,f]	[g]	[h,i]			

Exemplos (E): [a] Williams e Reed (2003) e [b] Reed e Williams (2004) (mistura: vapor 25 %/N₂ 75 %); [c] Reed e Williams (2004) (ZnCl₂); [d] Rosas et al. (2009) (H₃PO₄); [e] Dizbay-Onat et al. (2018) (H₃PO₄); [f] Vukcevic et al., (2017) (NaOH e NaClO₂); [g] Vukcevic et al. (2015) (KOH); [h] Sun et al. (2016) (KOH); [i] Hossain et al. 2018) (KOH e NaOH). Obs.: o N₂ foi o gás inerte utilizado.

A ativação física (gaseificação) por vapor (25 %) em duas etapas realizada por Reed e Williams (2004) demonstra que os CAs obtidos de fibras de cânhamo apresentaram as maiores áreas superficiais quando comparado aos obtidos a partir de outras fibras lignocelulósicas. Os autores justificam que o maior teor de voláteis (gases) proporciona um maior volume de poros durante o borbulhamento destes, apesar de uma diminuição da quantidade de microporos. Heschel e Klose, (1995) demonstraram que, de uma forma geral, a utilização de uma maior fração de vapor aumenta, como esperado, a área superficial do CA.

Rosas et al. (2009) demonstraram que a produção de CA em uma etapa química com ativação utilizando o H₃PO₃ proporcionou rendimentos quase duas vezes maiores do que utilizando fibras sem impregnação. Os autores demonstraram ainda que os valores de rendimento diminuem ligeiramente com a temperatura de ativação e a taxa de impregnação desse reagente, como consequência de uma desidratação mais profunda da estrutura carbonácea do precursor, porém esses fatores ocasionam um aumento da área superficial dos CAs formados. Já a quantidade de grupos oxigenados nas superfícies dos CAs aumenta progressivamente com a temperatura de ativação e diminuir a razão de impregnação.

[Dizbay-Onat et al. \(2018\)](#) demonstraram que após ativação química em uma etapa com H_3PO_4 , as fibras de cânhamo, caracterizadas por um baixo teor de lignina, proporcionaram a produção de CA com maior porosidade quando comparada a fibras de sisal, que possui um maior teor de lignina (10 %, segundo [Dai e Fan \(2010\)](#)). Além disso, a menor temperatura de decomposição das fibras de cânhamo (418 °C), quando comparado as fibras de sisal (513 °C), pode fornecer significativamente menores custos durante o processo de pirólise.

A ativação química em duas etapas, sendo a primeira pirolítica, realizada por [Vukcevic et al. \(2015\)](#), utilizando o KOH como agente ativante a ser impregnado ao carvão demonstrou que uma maior quantidade do ativador pode proporcionar em um aumento da área superficial do CA. Entretanto, o ativador em excesso gera prejuízos na área superficial. Os autores explicam que a água formada pela decomposição do KOH e que reage com o carbono para formar gases é prejudicial quando em excesso. Eles demonstraram ainda que a utilização de uma menor temperatura durante alguma das duas etapas de produção acarreta uma diminuição da área superficial dos CAs.

[Sun et al. \(2016\)](#) conduziram a ativação química em duas etapas, sendo a primeira por hidrocarbonização. Os autores analisaram as fibras *bast* e as fibras *hurd* do cânhamo. Os hidrocarvões produzidos de ambas as matérias-primas com água ligeiramente acidificada demonstraram ser melhores precursores para a produção de CAs com altas áreas superficiais, porém a melhora em ambos os casos foi apenas na área de mesoporos. As fibras *hurd* proporcionaram CAs com áreas superficiais, apenas, ligeiramente maiores. Assim como descrito por [Vukcevic et al. \(2015\)](#), o aumento da quantidade do KOH proporcionou a produção de CA com maior área superficial. Entretanto, o excesso do ativador proporcionou prejuízos. [Branca et al. \(2017\)](#), ao analisar uma variedade específica de cânhamo, observaram que as fibras *bast* apresentam um menor teor de cinzas do que as fibras *hurd*.

[Hossain et al. \(2018\)](#) também produziram CAs de fibras de cânhamo em duas etapas, sendo a primeira por hidrocarbonização. Este estudo utilizou temperatura mais alta na primeira etapa quando comparado com o de [Sun et al. \(2016\)](#), bem como testou mais de um ativante de caráter básico (KOH e NaOH). Os autores demonstram que o KOH é mais eficiente para proporcionar CAs com maiores áreas superficiais, bem como que a razão ativante/fibras de 3:1, também demonstrada por [Sun et al. \(2016\)](#), é mais adequada do que a razão 2:1, também demonstrada por [Vukcevic et al. \(2015\)](#).

Os estudos pioneiros visando a obtenção de CA com elevada área superficial a partir do pré-tratamento do precursor com fungos ([Wang et al., 2011b](#); [Wang et al., 2019](#))

não analisaram, em específico, as fibras de cânhamo. Entretanto, [Siwulski et al. \(2010\)](#) demonstram que o CES de fungos em fibras *hurd* de cânhamo pode proporcionar uma atividade enzimática da laccase superior do que em outros materiais lignocelulósicos. Os resultados foram 10,5, 26,25 e 35 vezes maior do que os obtidos com linho, palha e serragem, respectivamente.

3.3.6 As suas fibras no atual comércio e indústria nacional

Atualmente as fibras de cânhamo são descritas no *Sistema Harmonizado de Designação e de Codificação de Mercadorias*, ou simplesmente *Sistema Harmonizado*, um método internacional de classificação de mercadorias baseado em uma estrutura de códigos e respectivas descrições. Na “*Seção XI – Materiais têxteis e suas obras*” desse sistema é descrito, no *Capítulo 52 – Algodão* e no “*Capítulo 53 – Outras fibras vegetais*”, os diferentes tipos de fibras vegetais classificadas no mesmo. A [Tabela 7](#) mostra especificamente as fibras vegetais descritas neste documento, incluindo as “*fibras provenientes do caule do cânhamo – Cannabis sativa*”. As estopas, ou seja, “*resíduos fibrosos obtidos da espadelagem e penteação (ou retalhação) das fibras de cânhamo e aplicados frequentemente para produção de fios, material de enchimento, calafetagem e produção de papel*”, também são descritas neste sistema ([DOU, 2008](#)).

As fibras e derivados fibrosos do cânhamo também são citados na *Classificação Nacional de Atividade Econômica (CNAE)*: “1312-0/00 Fiação de cânhamo”; “1312-0/00 Fabricação de fibras de cânhamo beneficiadas”; “1322-7/00 Tecelagem de cânhamo” ([CNAE, 2010](#)). Existe ainda no país o CNAE “01109 Cultivo de cânhamo” ([CNAE-Domiciliar, 2010](#)). Esta citação de cultivo está presente em uma classificação especial denominada “*Domiciliar*”, que, segundo o ([IBGE, 2019](#)), é utilizada para censo demográfico. Vimos que em 1938 o Brasil tornou ilegal o cultivo de qualquer variedade de *Cannabis* ([Brasil, 1938](#)), mas que em 1961 a CUE não restringiu o cultivo do gênero para a obtenção de fibras e sementes. Logo, é importante notar também o que diz o capítulo 22 da CUE: “*Quando as condições existentes no país ... indicarem ... que a proibição do cultivo ... da planta da cannabis é a medida mais adequada para proteger a saúde pública e evitar que os entorpecentes sejam usados no tráfico ilícito, a Parte em causa proibirá aquele cultivo.*” ([Brasil, 1964](#)). Além disso, que no Brasil e em outros países algumas fibras têxteis são obtidas de plantas conhecidas como “*falso cânhamo*” ([DDOU, 2008](#)) ou “*not hemp*” ([ASTM, 2003](#)), respectivamente. A [Tabela 8](#) apresenta alguns detalhes dessas plantas.

Tabela 7 – Classificação das fibras têxteis descritas no *Sistema Harmonizado* (DOU, 2008).

Nomenclatura popular	Nomenclatura botânica	Nomenclatura Comum do Mercosul (NCM)	Observações
Algodão	<i>Gossypium</i>	52XX.XX.XX	*exceto linho, cânhamo, juta e rami (<i>Boehmeria</i>)
Linho	<i>Linum usitatissimum</i>	5301.XX.XX	
Cânhamo	<i>Cannabis sativa</i> L.	5302.XX.XX	X = será definido de acordo com o estado físico da matéria-prima
Juta	<i>Corchorus</i>	5303.X0.10	
Outras liberianas*		5303.X0.90	
Outras		5305.00.X0	

Tabela 8 - Plantas conhecidas como “falso cânhamo” e que produzem fibras têxteis.

Diário Oficial da União (DOU, 2008)		American Society for Testing and Materials (ASTM, 2003)	
Nome popular ('falso cânhamo')	Gênero ou espécie	Gênero ou espécie	Nome popular ('not hemp')
Cânhamo de Tampico, Istle ou Pita	<i>Agave</i> , (<i>Agave sisalana</i>)	<i>A. funkiana</i> ; <i>A. lophanta</i>	Tampico or istle
Cânhamo (de Gambo, de Ambari ou brasileiro) ou Kenaf	<i>Hibiscus cannabinus</i>	<i>H. cannabinus</i>	Kenaf, Meshta; Ambari, Bimlipatam, Dha or (Awasthe, Deccan, Gambo or Gombo) hemp
Cânhamo Rosella	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	<i>H. sabdariffa</i>	Roselle or Rosella
Cânhamo de Abutilon	<i>Abutilon avicennae</i>	<i>A. avicennae</i> ; <i>A. theophrasti</i>	(Chinese or Tientsin) jute or Chingma
Cânhamo (da Índia, de Suna, de Madras, de Calcutá, de Bombaim ou de Benares)	<i>Crotalaria juncea</i>	<i>C. juncea</i>	Benares, Bombay, Brown, Coconada, Indian, Itarsi, Jubblepore Madras, Phillibit black, Seonie or Wrangel) hemp or Sunn
Cânhamo de Queensland	<i>Sida</i>	<i>S. rhombifolia</i>	Queensland hemp
Cânhamo do Haiti	<i>Agave foetida</i>	-	-
Cânhamo de Manila ou Abacá	<i>Musa textilis</i>	<i>M. textilis</i>	Abaca, Manila or (Cebu, Davao or Manila) hemp
Cânhamo de Maurício	<i>Furcraea gigantea</i>	<i>F. gigantea</i>	(Mauritius or Natal) hemp
Cânhamo da Nova Zelândia	<i>Phormium tenax</i>	<i>P. tenax</i>	(New Zealand or St Helena) hemp
		<i>Sansevieria</i>	Bowstring hemp
		<i>Sansevieria</i>	Ife hemp or Ifé
		<i>Sansevierid kirkii</i>	Pangane or Pangane hemp
		<i>Apocynum cannabinum</i>	Indian hemp in United States "or American hemp")
		<i>Agave tequilana</i>	Mazatlan hemp
		<i>Hibiscus abelmoschus</i>	Musk hemp

Com isso, diante da Portaria 344/98 da ANVISA, que afirma que para a manipulação de qualquer derivado da *Cannabis* é necessário a anuência da Agência, é possível chegar a uma destas conclusões:

1) as descrições do cânhamo nos documentos citados são regulamentações que tornam possível a manipulação do material sem a necessidade de autorização da ANVISA, já que reforçam o que traz o artigo segundo da *Lei 11.343 – Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas*.

“Art. 2º Ficam proibidas, em todo o território nacional, as drogas, bem como o plantio, a cultura, a colheita e a exploração de vegetais e substratos dos quais possam ser extraídas ou produzidas drogas, ressalvada a hipótese de autorização legal ou regulamentar, ...” (Brasil, 2006);

2) as descrições do cânhamo nos documentos citados são regulamentações que tornam possível a manipulação do material com autorização prévia da ANVISA;

3) estes documentos são apenas descritivos e não podem ser praticados no Brasil até que seja criada uma regulamentação específica, com participação da ANVISA, que permita manipular as fibras ou algum cultivar de “cânhamo verdadeiro” (*Cannabis*).

Recentemente no país houve uma tentativa de regulamentação do *Cultivo para fins científicos e medicinais* guiada pela ANVISA. O tema foi aberto como consulta pública aos cidadãos, tornando-se possível propor alterações na proposta inicial descrita pela Agência. A revisão científica deste trabalho, por exemplo, serviu de base para propor, via protocolo 47948.511Ves0G1o2S2, que se fizesse “a distinção entre plantas que possam ser classificadas como *Cannabis* psicoativa (maconha) e *Cannabis* não psicoativa (cânhamo)”, assim como em diversos outros países. Entretanto, esta sugestão não foi considerada (ANVISA, 2019a) antes da primeira etapa de votação dos diretores. A iniciativa terminou sendo arquivada após um pedido de revisão da proposta e inclusão de um novo diretor na Agência.

4 Materiais e Métodos

O quarto capítulo apresenta os materiais e métodos que foram utilizados neste trabalho. A primeira etapa experimental foi obter as “*Autorizações para trabalhar com o CBD não sintético*”. Depois, foi propor “*Aperfeiçoamentos em testes rápidos para identificar derivados de Cannabis*” e realizar a “*Análise detalhada da estrutura 3D do CBD e de sua inibição in silico à COVID-19*”. O produto comercializado no país com o nome de “estopa de cânhamo” foi adquirido e utilizado para a “*Produção e caracterização do carvão ativado*” avaliado como carreador. O ibuprofeno (IBU) foi escolhido como fármaco de referência a ser comparado com o CBD, sendo adquirido em uma grande quantidade de uma farmácia de manipulação local (Pharmakon, CNPJ: 03.446.178/0001-59) e tendo sua alta pureza confirmada a partir de um padrão primário (Sigma-Aldrich). Por fim, foi avaliado a “*Complexação dos fármacos aos carreadores*”, a “*Atividade citotóxica in vitro*” e a “*Atividade anti-inflamatória aguda in vivo*”.

4.1 Autorizações para trabalhar com o CBD não sintético

O objetivo de se utilizar o canabidiol neste trabalho foi inicialmente avaliado e autorizado pelo *Conselho Acadêmico do PEQ/UEM*, como descreve a Resolução nº 039/2020-PEQ de 07/02/2020. Posteriormente, em 17/03/2020, o protocolo de análises *in vivo* nº 4591170220, visando analisar a atividade anti-inflamatória do CBD puro e complexado, foi aprovado pela *Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UEM)*. Seguindo normas específicas (ANVISA, 2008; 2009), o projeto de pesquisa foi apresentado à ANVISA em 19/03/2020 junto com o comprovante de pagamento da taxa de fiscalização (R\$ 3.514,32) e uma carta de autorização da Reitoria da UEM (Ofício nº 076/2020-GRE). A taxa foi paga com parte da “*taxa de bancada de doutorado*” do discente, após questionamento formal ao CNPq (protocolos 829430, 830686, 833623 e 836008). Com isso, em 03/04/2020, foi concedida, com validade de um ano, a Autorização de Pesquisa (AEP) nº 005/2020 (Anexo 1, página 148).

O CBD utilizado neste estudo foi fabricado pela empresa Isodiol (Iso International, LLC), localizada na Califórnia – EUA, e foi doado pela empresa FarmaUSA (UrbanBox, Inc), localizada em Miami – EUA. O produto é um bioativo derivado do “cânhamo industrial” (“*industrial hemp*”), refinado para uma pureza $\geq 99\%$ e internacionalmente registrado com o nome ISO99™ – Bioactive Anhydrous Hemp Oil. Logo, segue as regras da “*2018 Farm Bill*” dos EUA: “*planta Cannabis sativa L. e qualquer parte dessa planta, em crescimento ou não, com uma concentração de delta-9 tetrahidrocanabinol não superior a 0,3 por cento com base no peso seco*”. De acordo com as definições a ANVISA (ANVISA, 2020c), por ser uma substância obtida diretamente de plantas de

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexado em carreadores

Cannabis, caracteriza-se como um produto da Lista E da Portaria SVS/MS 344 (ANVISA, 1998), diferenciando-se assim do CBD sintético (Lista C – Portaria SVS/MS 344). Com isso, foi necessário também solicitar a “Autorização de Importação Específica” (AIE).

Para isso, seguindo regras específicas (ANVISA, 2020b), em 16/04/2020, foi solicitado o cadastro da UEM no *National Drug Control System* (NDS) (Ofício nº 145/2020-GRE, UEM). Em seguida, em 01/05/2020, foi realizada, no sistema NDS, a solicitação (“nº 475”) para cadastrado do estabelecimento estrangeiro URBANBOX, Inc, sendo aprovada em 11/05/2020. Além disso, em 03/05/2020, foi realizada a solicitação (“nº 2732”) para o cadastro do produto ISO99 - BIOACTIVE ANHYDROUS HEMP OIL - $\geq 99\%$ X 1 GRAMA, sendo aprovada em 07/05/2020. Assim, a solicitação nº 5315 permitiu, em 22/05/2020, abrir formalmente o pedido de importação AI-468-2020, ao qual foi aprovado pelo NDS em 25/05/2020 (Anexo 2, página 149). Antes do envio do produto foi ainda necessário a obtenção de um documento equivalente a uma “Autorização de Exportação emitida pelo país exportador”. Por se tratar de um produto dos Estados Unidos da América, foi informado, pela Nota Técnica nº 24/2020/SEI/COCIC/GPCON/GGMON/DIRE5/ANVISA, que a instituição responsável seria a *Drug Enforcement Administration* (DEA). Uma “Carta de Não Objeção” para a exportação do ISO⁹⁹ foi emitida pelo DEA em 16/06/2020. O produto foi enviado via remessa expressa e foi recebido no dia 13/07/2020.

A quantidade total de amostra doada foi de 5 g, ou seja, cinco frascos de 1 g. O certificado da pureza de CBD $\geq 99,5\%$ no lote F191106 do produto, fornecido pela FarmaUSA e apresentado durante o processo autorização, é mostrado no Anexo 3 (página 150). Apesar do certificado do lote descrever “validade até maio/2021” as cinco embalagens apresentavam a informação “validade até dezembro/2021” (Figura 20).



Figura 20 – Detalhes da embalagem do CBD não sintético da ISODIOL (ISO⁹⁹, 1 g).

Em 23/02/2021 houve o pedido de renovação da Autorização de Pesquisa, sendo a mesma aprovada com validade de 2 anos em 04/03/2021 (AEP nº 004/2021 – Anexo 4,

página 151). Em 29/03/2021 a ANVISA autorizou, através do Ofício nº 1203249212, o pedido de inclusão de pesquisadores para a realização de análises *in vitro* (Ofício nº 067.2021-GRE, UEM). Posteriormente, em 17/05/2021, a ANVISA também autorizou, através do Ofício nº 1902480211, um novo pedido de parceria científica visando diferentes análises físico-químicas (Ofício nº 113.2021-GRE, UEM). Durante todo o período de vigência da pesquisa a quantidade de CBD utilizada e em estoque foi devidamente descrita trimestralmente e anualmente no “*Balanço de Substâncias Psicoativas e Outras sujeitas a controle especial*” (BSPO), ao qual foi supervisionado pela Vigilância Sanitária de Maringá/PR (Anexo 5, 152).

4.2 Aperfeiçoamentos em testes rápidos para identificar derivados de *Cannabis*

O CBD foi inicialmente utilizado com o objetivo de aperfeiçoar alguns testes rápidos comumente aplicados na identificação de derivados de *Cannabis*: *Testes colorimétricos* e *Cromatografia em Camada Delgada (CCD)*. Os resultados foram comparados aos obtidos a partir de amostras de flores de *Cannabis*, de diferentes variedades, adquiridas e analisadas no Uruguai. O Uruguai, seguindo diretrizes do art. 23 da CUE (Brasil, 1964), criou, no final de 2013, o *Instituto de Regulação e Controle de Cannabis* (IRCCA), e passou a permitir a adultos com registro civil a compra de até 10 g por semana de flores por semana. A Tabela 9 e a Figura 21 apresentam algumas das especificidades das flores de *Cannabis* adquiridas, apesar de todas apresentarem a informação “THC ≤ 9% CBD ≥ 3%” impressa em suas embalagens.

Tabela 9 – Detalhes das compras das flores de *Cannabis* no Uruguai.

Data	Hora (local)	Farmácia	“e-Ticket”	Variedade	Gramas
23/10/2020	12:37	Antartida (211515660017)	A-904026	ALFA II (α 2), *§	5
				BETA II (β 2), †§	5
30/10/2020	16:37	Antartida (211515660017)	A-905160	ALFA I (α 1), *‡	5
				BETA I (β 2), †‡	5
06/11/2020	17:34	Antartida (211515660017)	A-906183	BETA II (β 2), †§	5
				BETA II (β 2), †§	5
14/11/2020	10:08	Camaño (211144990014)	A 1462	BETA II (β 2), †§	5
				BETA II (β 2), †§	5
23/11/2020	08:45	Antartida (211515660017)	A-908285	BETA II (β 2), †§	5

Adquiridas sob o registro de Daniel Ribeiro Grijó

* variedade híbrida com predominância na espécie *C. indica*

† variedade híbrida com predominância na espécie *C. sativa*

‡ fabricante: International Cannabis Corp. (nº 217740050017)

§ fabricante: Symbiosis (nº 217477100012)



Figura 21 – Amostras das quatro variedades de flores de *Cannabis* adquiridas e analisadas no Uruguai.

A descarboxilação das quatro variedades ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ e $\beta 2$) a 140 °C também foi analisada, coletando amostras após 30 e 240 min de aquecimento. Os parâmetros da descarboxilação foram escolhidos considerando estudos anteriores descritos na literatura (Grijó et al., 2019b-c). Além disso, a fim de avaliar se o aquecimento prévio das flores é vantajoso para a obtenção de extratos por prensagem, amostras descarboxiladas e *in natura* da variedade $\beta 2$ foram submetidas a extrações sob 3 toneladas e 100 °C por 120 segundos (Figura 22). As análises foram conduzidas em duplicata na empresa Rosin Tech (Canelones, Uruguay), utilizando 4 g de amostra acondicionada em uma malha de 160 μm . Os extratos obtidos foram coletados individualmente em papel siliconado e tiveram seus rendimentos calculados.



Figura 22 – Extração por prensagem a quente (variedade $\beta 2$): (a) equipamento utilizado (RTP Rosin Press, RTPGAI024); (b) amostras com 4 g cada em malhas de 160 μm ; (c) extrato de amostra *in natura* coletada em papel siliconado; e (d) mesmo procedimento aplicado à amostra descarboxilada.

O teor de óleo obtido por prensagem foi comparado ao teor obtido por extração com etanol a $42,5 \pm 2,5$ °C etanol. A extração com solvente foi conduzida utilizando 250 mg de amostra *in natura* inserida em um tubo de ensaio com tampa de rosca contendo uma barra magnética de 10 x 3 mm. Posteriormente, foi acionado 5 mL de etanol previamente aquecido. O sistema foi mantido sob agitação magnética de 1500 rpm por 30 min (Thermo Fischer, Cimarec+™), sendo depois submetido a 15 minutos de centrifugação de 4500 rpm (DLAB, modelo DM0412S, com rotor de 14 cm de diâmetro – força G equivalente = 1585). O sobrenadante foi transferido para um tubo de ensaio de massa conhecida e o resíduo vegetal foi submetido ao mesmo processo de extração por mais 5x. O solvente do extrato final foi eliminado utilizando aquecimento brando de 40 °C e uma corrente gasosa de nitrogênio ultrapuro.

4.2.1 Testes colorimétricos

As análises colorimétricas foram conduzidas inicialmente para avaliar diferentes parâmetros de testes de Duquenois modificados descritos na literatura (Tabela 2). A variedade $\beta 2$ foi utilizada para avaliar esses parâmetros, sendo comparado o efeito de manter a matriz vegetal durante todo o teste e a utilização de diferentes concentrações de vanilina em solução etanólica. A massa de 25 mg de flores de $\beta 2$ foi adicionada em diferentes tubos de ensaios de tampa rosqueada. O volume de 2,5 mL de uma solução etanólica com vanilina a 20 (Bailey, 1979; UNODC, 2009; Jacobs e Steiner, 2014) ou 80 (Jacobs e Steiner, 2014) mg/mL foi adicionado a cada tubo, sendo estes submetidos a agitação em vórtex por 5 min. As análises conduzidas a partir de extratos, ou seja, com a remoção da matriz vegetal, foram avaliadas a partir da centrifugação a 4500 rpm (DLAB, DM0412S) por 15 min e transferência de 2 mL do sobrenadante para outro tubo de ensaio. O volume de 2 mL de HCl concentrado foi adicionado em cada tubo, seguido de agitação manual por 1 min e repouso da amostra por 10 min. Por fim, houve a adição de 2 mL de clorofórmio seguida de agitação manual por 1 min e repouso da amostra por 2 min para a completa separação das fases. Os resultados das diferentes etapas da análise foram fotografados (GoPro, Hero 6 Black) e comparados.

Os parâmetros de análise otimizados foram aplicados às 21 amostras apresentadas na Figura 23a. O resultado obtido com o CBD não sintético puro (#1) foi comparado com outras três amostras de substâncias puras: sal (#2), açúcar (#3) e ibuprofeno (#4). As flores da variedade $\beta 2$ *in natura* (#5) e submetidas a um aquecimento a 140 °C por 30 (#6) e 240 (#7) minutos foram comparadas a fim de analisar a sensibilidade da técnica para identificar as mudanças de composição ocasionadas pelo processo de descarboxilação. O “kief” das flores $\beta 2$ foi separado (Figura 23b) e analisado (#8). As variedades $\alpha 1$ (#9), $\alpha 2$ (#10) e $\beta 1$ (#11) foram analisadas apenas como foram

adquiridas. Também foram amostras derivadas de outras plantas, sendo algumas previamente descritas como “falso positivo” (UNODC, 2009; Kelly et al., 2012): orégano (#12), erva mate (#13), eucalipto (#14), wasabi (*Eutrema japonicum*) (Kenko) (#15), lúpulo (*Humulus lupulus*) (Barth-Haas Group, variedades: Vic Secret e Ella) (#16 e #17, respectivamente), café (*Coffea*) (Nescafé, tipos: Tradição e Bracafé) (#18 e #19, respectivamente), henna (*Lawsonia inermis*) (Casa da Índia – Bory Art Quality) (#20) e agrimônia (*Agrimonia eupatoria*) (Bach, 10 mL) (#21). Para a amostra líquida, #21, exclusivamente, a massa de vanilina equivalente foi pesada em um tubo de ensaio e o extrato etanólico da própria amostra foi adicionado a esta.

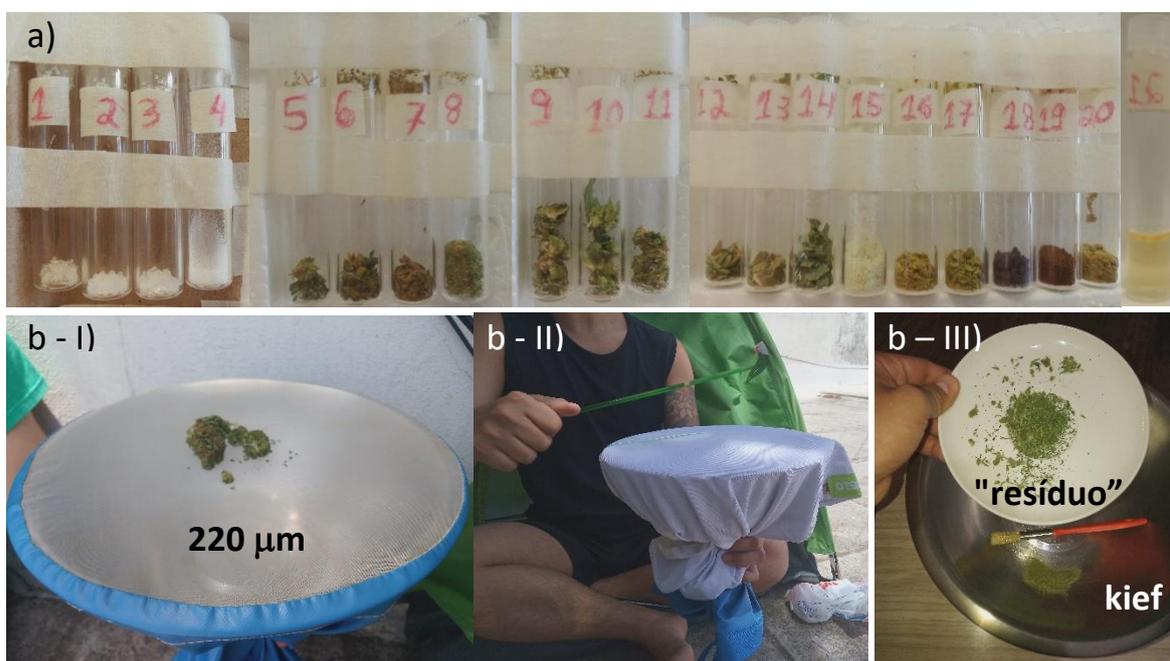


Figura 23 – Amostras submetidas ao teste colorimétrico otimizado: a) identificação; b) etapas para a obtenção da amostra #8 (kief) (I: “flores” sob tela de 220 µm; II: procedimento repetitivo de golpear suavemente a amostra coberta; III: kief (fração que passa através da tela) e “resíduo” (fração que não passa através da tela).

O CBD não sintético puro também foi submetido ao teste comercial com o reagente 4-aminofenol (Swiss 4-AP TEST – “HEMPTEST”), doado pela empresa Rebel Brands. A análise foi realizada utilizando 5 mg de amostra, conforme descrito na embalagem do produto. Em seguida, as duas ampolas de reagentes foram quebradas e o recipiente de plástico foi agitado por 2 min. Por fim, foi verificado se houve mudança de cor após 10 min de repouso. Os resultados foram comparados aos descritos na literatura (Lewis et al., 2021).

4.2.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

As análises por CCD foram conduzidas inicialmente com diferentes padrões de

canabinóides, a fim de determinar seus respectivos fatores de retenção. O volume de 10 mL de cada um dos seguintes canabinóides (Restek, 1 mg/mL) citados a seguir foram doados pelo Laboratório Analítico UNIFAM (Montevidéu, Uruguai): CBD, Δ^9 -THC, delta-8-tetrahydrocannabinol (Δ^8 -THC), canabigerol (CBG), canabinol (CBN), ácido canabidiólico (CBDA) e ácido delta-9-tetrahydrocannabinólico Δ^9 -THCA. O momento dipolo (μ) e o coeficiente de partição octanol/água ($\log P_{OW}$) desses canabinóides foram estimados por mecânica quântica via função de densidade B3LYP do software Spartan V14, a fim de tentar descrever as características de eluição observadas.

As análises foram conduzidas utilizando cromatofolhas de alumínio com uma camada de 0,20 mm de sílica gel não modificada, com tamanho de partícula de 2-10 μm , porosidade de 60 Å e com indicador UV254 (Macherey-Nagel, ALUGRAM NANO-SIL 20x20cm 25un). As placas foram cortadas em tiras de 2x10 cm, sendo feitas marcações de grafite a 1 cm das bases verticais superior e inferior. O volume de 0,75 μL foi aplicado com uma seringa cromatográfica (SGE Analytical Science, 25 μL) em dois pontos de cada tira para minimizar possíveis variações nos fatores de retenção: à esquerda uma solução padrão de CBD (Isodiol) e à direita a amostra a ser analisada. O fator de retenção relativo (R_F^r) de cada amostra foi calculado a partir da razão das distâncias percorridas, como mostra a [Equação 5](#).

$$R_F^r = \frac{\text{distância percorrida pela amostra analisada}}{\text{distância percorrida pelo CBD da solução padrão}} \quad (5)$$

As placas utilizadas foram introduzidas individualmente, com auxílio de uma pinça, em recipientes de vidro cilíndricos com tampa rosca (6.5 cm de diâmetro e 12 cm de altura) com 3 mL de fase móvel. As fases móveis utilizadas foram similares as descritas por ([UNODC, 2009](#)): a) 80 % n-hexano e 20 % éter dietílico; b) 70 % n-hexano, 20 % acetato de etila e 10 % metanol. O procedimento final de identificação foi conduzido por fotografia (GoPro HERO 6 Black), utilizando uma luminária com reator eletromagnético e uma luz ultravioleta tipo-C (Osram, 9W).

As análises das flores *in natura* e descarboxiladas (α_1 , α_2 , β_1 e β_2) foram realizadas utilizando extratos obtidos a partir de 25 mg de amostras introduzidas em respectivos vials Eppendorf e 200 μL de uma mistura de metanol/clorofórmio (9/1, v/v) ([UNODC, 2009](#)). Os vials foram agitados em vórtex por 5 min e depois centrifugados por 5 min a 10.900 rpm (Abbott, modelo 3531, com rotor de 12 cm de diâmetro – força G equivalente = 7970). O sobrenadante de cada amostra foi transferido para outro vial Eppendorf.

4.3 Análise detalhada da estrutura 3D do CBD e de sua inibição *in silico* à COVID-19

Os detalhes da estrutura molecular do CBD puro não sintético foram analisados por diferentes técnicas de “*Ressonância Magnética Nuclear (RMN)*”, a fim de melhor elucidar as características tridimensionais do seu arranjo molecular. Posteriormente, foi realizada a “*Simulação in silico de inibição à COVID-19*”.

4.3.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As análises de RMN foram conduzidas em parceria com o *Complexo Central de Apoio à Pesquisa (COMCAP)* da UEM, utilizando um Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear de 500 MHz (Bruker, AVANCE III HD). O processamento dos dados foi conduzido utilizando o software Mnova (Mestrelab Research). Além disso, o software online GeoGebra 3D foi utilizado para analisar a geometria tridimensional do CBD previamente descrita em difração de raios-X por [Mayr et al. \(2017\)](#).

As análises em uma (1D) e duas (2D) dimensões relacionadas aos núcleos de hidrogênio. ^1H e $^1\text{H}, ^1\text{H}$, respectivamente, foram realizadas a partir de uma amostra com aproximadamente 3,5 mg solubilizada em 0,6 mL de clorofórmio deuterado (Sigma-Aldrich, 99,8%). A *Espectroscopia de Correlação Homonuclear (COSY)* foi conduzida para identificar sinais de acoplamento de prótons em carbonos geminais (adjacentes) ou vicinais (distância de dois carbonos). A análise de *Espectroscopia de Intensificação Nuclear Overhauser (NOESY)* também foi realizada, por correlacionar hidrogênios que estão espacialmente próximos ($< 4 \text{ \AA}$) ([Pattabhi e Gautham, 2002](#)).

O acréscimo de CBD puro foi posteriormente realizado na solução previamente preparada, tornando-a mais concentrada ($\cong 20\sim 25 \text{ mg}$ em 0,6 mL) para as análises relacionadas aos núcleos de carbono em 1D (^{13}C) e 2D ($^1\text{H}, ^{13}\text{C}$). A multiplicidade de substituição dos átomos de carbono foi determinada via *Espectroscopia de Intensificação da Distorção por Transferência de Polarização* com ângulo de pulso de 150° (DEPT 135), que forneceu sinais negativos para carbonos CH_2 e sinais positivos para carbonos CH e CH_3 . As análises espectrométricas de *Correlação Quântica Única Heteronuclear (HSQC)*, que apresentam sinais únicos para prótons ligados a heteronúcleos, e de *Correlação de Ligação Múltipla Heteronuclear (HMBC)*, que demonstra os sinais de prótons próximos a heteronúcleos distantes por duas ou três ligações, também foram conduzidas.

4.3.2 Inibição à COVID-19 *in silico*

As análises *in silico* foram conduzidas em parceria com Prof. Dr. Flavio Augusto Vicente Seixas (Departamento de Tecnologia – DTC/UEM). A estrutura da principal

protease (M^{pro}) do coronavírus 2 (SARS-CoV-2, do Inglês: *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), ligada ao inibidor sintético X77 (pdbid: 6w63), foi obtida no *Protein Data Bank* (rcsb.org) e utilizada nas simulações de atracamento molecular (do inglês: *molecular docking*) por meio do programa Vina 0.9.8. A estrutura 3D do canabidiol avaliada como ligante foi obtida da base de dados Pubchem (CID644019), bem como decodificada de duas maneiras a partir artigo de [Mayr et al. \(2017\)](#). Como a referência apresenta dados das coordenadas atômicas fracionárias foi necessário fazer conversões dos dados para Ångström (Å). Os resultados (scores), expressos em termos de $\Delta G_{\text{ligação}}$ (kcal/mol), foram obtidos em triplicata e comparado com o ligante de referência (X77). As imagens demonstrando a conformação 3D das moléculas foram geradas por meio do programa VMD.

4.4 Produção e caracterização do carvão ativado

A “*Obtenção do precursor lignocelulósico*” é descrita inicialmente neste tópico. Na sequência, são apresentadas as metodologias utilizadas para caracterizar este material: “*Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)*”, “*Composição centesimal do precursor*” e “*Composição de metais pesados do precursor*”. As análises de caracterização do precursor foram conduzidas utilizando amostras que foram previamente lavadas em água corrente e que tiveram seu tamanho reduzido manualmente com uma tesoura. O “*Pré-tratamento do precursor a partir do cultivo de fungos*” foi avaliado antes da análise da “*Pirólise*” do mesmo. Por fim, foi realizada a “*Caracterização dos adsorventes produzidos*”

4.4.1 Obtenção do precursor lignocelulósico

O precursor utilizado para a produção dos adsorventes foi a “estopa de fibra de cânhamo”, adquirida em dois pacotes de 1 kg da empresa Casa Monteiro (CNPJ: 17.866.832/0001-98). Apesar da descrição do produto na nota fiscal se referenciar a um derivado de “cânhamo” a *Nomenclatura Comum da Mercosul* deste, NCM: 53031090, se refere, como vimos na [Tabela 7](#), a um derivado de fibra vegetal têxtil liberianas exceto “linho”, “*Cannabis*”, “juta” e “rami”. Logo, acredita-se que este material seja derivado de um dos “*falsos cânhamos*” descritos na [Tabela 8](#). A [Tabela 10](#) mostra uma comparação visual entre esta e outras fibras que também são comercializadas em território nacional. O produto adquirido de outra empresa com o nome “estopa de gesso” foi o que apresentou características mais próximas da “estopa de cânhamo”, mas não se pôde obter conclusões mais detalhadas sobre os materiais.

Tabela 10 – Fibras vegetais adquiridas.

	<p>Estopa de cânhamo (CM)</p> <p>NCM 53031090</p> <p>Tipo têxtil</p>		<p>Juta cardada (JC)</p> <p>NCM 53031010</p> <p>Tipo têxtil</p>
	<p>Estopa de gesso (SS)</p> <p>NCM 53031090</p> <p>Tipo têxtil</p>		<p>Fibra de sisal (SS)</p> <p>NCM 53050090</p> <p>Tipo têxtil</p>
	<p>Palha de buriti (SS)</p> <p>NCM 48102990</p> <p>Tipo não-têxtil</p>		<p>Palha de madeira (SS)</p> <p>NCM 44012100</p> <p>Tipo não-têxtil</p>

* CM: Casa Monteiro; JC: Juta & Cia (15.664.449/0001-21); SS: Sisal Sul (15.664.449/0001-21).

4.4.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A estopa de fibra de cânhamo adquirida foi submetida a análise de um *Espectrômetro Infravermelho por Transformada de Fourier com módulo de Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR)* (Bruker, Vertex 70v, obs.: cristal ATR de diamante), localizado no *Departamento de Física da UEM*. As análises foram conduzidas com uma resolução de 4 cm^{-1} e 128 scans/min, na faixa entre 4000 e 800 cm^{-1} . As mesmas condições de operação foram utilizadas em análises do *Tópico 4.5*, porém estas foram conduzidas com um FTIR-ATR (Bruker, Tensor II, obs.: análises com nitrogênio líquido) localizado no *Laboratório de Refino e Tecnologias Limpas do Instituto de Pesquisa em Petróleo e Energia da Universidade Federal de Pernambuco (LATECLIM/LITPEG/UFPE)*.

4.4.3 Composição centesimal do precursor

A composição centesimal em umidade, outros voláteis, cinzas e carbono fixo foi determinada gravimetricamente analisada em duplicata, seguindo *Norma D1762-84 (ASTM, 2007)*. As massas dos cadinhos utilizados ($m_{R,i}$) foram determinadas com uma balança analítica (Shimadzu, AY220), após estes terem sido previamente condicionados, ou seja, aquecidos em uma mufla (Quimis, Q318M21) a $750 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ e depois adquirido a temperatura ambiente em um dessecador com sílica.

O teor de umidade ($\%_{0U}$) foi determinado utilizando amostras com massa inicial ($m_{0,i}$) de 1 g, aferidas com a aproximação de 0,1 mg. Os cadinhos com amostras foram colocados em uma estufa sem circulação forçada de ar (BLUE M, GO1305A) a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ por 1 h. A massa de cada amostra seca ($m_{S,i}$) foi determinada a partir da respectiva massa do cadinho com esta, ou seja, após essa primeira etapa de análise para a determinação da composição centesimal ($m_{I,i}$), como mostra a [Equação 6](#).

$$\%_{0U} = \left[\sum_{i=1}^2 \left(\frac{m_{0,i} - m_{S,i}}{m_{0,i}} \right) \right] \cdot \frac{100}{2} = \left\{ \sum_{i=1}^2 \left[\frac{m_{0,i} - (m_{I,i} - m_{R,i})}{m_{0,i}} \right] \right\} \cdot \frac{100}{2} \quad (6)$$

O teor de outros voláteis ($\%_{0V}$) foi determinado utilizando as amostras previamente secas da etapa anterior. O primeiro passo foi aquecer previamente a mufla a 950°C . O controlador do equipamento foi então alterado para 300°C e após atingir essa temperatura a porta do mesmo foi aberta. Os cadinhos com as amostras secas foram colocados sobre a tampa externa da mufla por 2 min. Posteriormente, os cadinhos com amostra foram colocados no dessecador. A porta da mufla foi fechada e o controlador alterado para 500°C . Ao atingir a temperatura desejada, os cadinhos com amostra foram colocados na borda interna do forno com a porta aberta por 3 min. Em seguida, os cadinhos foram movidos para o fundo da mufla e após o fechamento da porta mantidos por 6 min. O teor foi determinado utilizando as massas das amostras previamente secas ($m_{S,i}$) e as massas dos cadinhos com amostra sem voláteis, ou seja, após a segunda etapa de análise para a determinação da composição centesimal ($m_{II,i}$), como mostra a [Equação 7](#).

$$\%_{0V} = \left\{ \sum_{i=1}^2 \left[\frac{m_{S,i} - (m_{II,i} - m_{R,i})}{m_{0,i}} \right] \right\} \cdot \frac{100}{2} \quad (7)$$

O teor de cinzas ($\%_{0C}$) foi determinado pelo aquecimento das amostras sem voláteis na mufla a 750°C por 6 h. A massa do cadinho com as cinzas, ou seja, após a terceira e última etapa de análise para a determinação da composição centesimal ($m_{III,i}$), foi utilizada no cálculo, como mostra a [Equação 8](#).

$$\%_{0C} = \left[\sum_{i=1}^2 \left(\frac{m_{III,i} - m_{R,i}}{m_{0,i}} \right) \right] \cdot \frac{100}{2} \quad (8)$$

O teor de carbono fixo ($\%_{0F}$) foi determinado por diferença, como mostra a [Equação 9](#).

$$\%_{0F} = 100 - \%_{0U} - \%_{0V} - \%_{0C} \quad (9)$$

4.4.4 Composição de metais pesados do precursor

As determinações dos teores dos metais pesados cádmio (Cd), cobre (Cu), ferro (Fe), níquel (Ni) e zinco (Zn) foram realizadas por espectroscopia de absorção atômica, a fim de comparar com trabalhos prévios descritos em literatura (Linger et al., 2002; Angelova et al., 2004; Khan et al., 2008). A quantificação foi determinada a partir da construção de curvas de calibração de cada metal. A amostra da fibra vegetai foi previamente seca a 105 °C por 3 h. A quantidade de 1,5 g de amostra seca foi pesada em cadinhos e aquecida a 450 °C a uma taxa aproximada de 2 °C/min, sendo este mantido na temperatura final por mais 10 h. Após o resfriamento, o resíduo foi pesado e dissolvido em 10 mL de ácido nítrico concentrado (HNO₃), sendo posteriormente diluído com água destilada até um volume total de 50 mL.

4.4.5 Pré-tratamento do precursor a partir do cultivo de fungos

A espécie do grupo “fungos da podridão branca” escolhida para a análise de potencialização de poros nas estopas de fibras de cânhamo foi a *Pleurotus ostreatus*, variedade florida. A etapa inicial de desenvolvimento do microrganismo foi conduzida em “spawns” (Figura 24), também chamados de “sementes-inóculo”, que é o veículo de dispersão do micélio (hifas) no substrato. A produção de “spawns” (inóculo) não foi avaliada nesse estudo, porém vários grãos pré-cozidos, como soja, trigo ou milho, são comumente utilizados (Bernardi et al., 2007). O produto foi adquirido da empresa WPMcogumelos (CNPJ: 21.466.765/0001-91).



Figura 24 – Spawns de *Pleurotus ostreatus* variedade florida, utilizados neste estudo (embalagem de 1,5 kg).

O cultivo em estado sólido (CES) foi conduzido utilizando Erlenmeyers de 125 mL, com aproximadamente 40 g de substrato úmido sob 75 % de umidade, ou seja, 10 g de substrato seco umidificado com 30 g de água. A estopa foi previamente cortada ao

tamanho de 3 cm e não foi lavada. Após adição do substrato, os Erlenmeyers foram tapados com rodilhão de algodão e suas partes superiores envolvidas com jornal amarrado com barbante antes de serem auto clavados (esterilizados) a 120 °C por 20 min. Em seguida, foram colocados em estufa, a 50 °C por 12 h, para secagem da superfície externa do frasco. A quantidade de spawns adicionados para o cultivo, sob ambiente com fluxo laminar estéril, foi de aproximadamente 1 g. O CES foi finalmente conduzido em uma estufa a temperatura ambiente (27 ± 2 °C) sob ausência de luz, como descrito por [Inácio et al. \(2015\)](#).

As suplementações analisadas paralelamente foram a adição de farelo de arroz, como descrito por [Marino et al. \(2008\)](#), bem como a utilização de uma solução rica em carboidratos e minerais ao invés de água pura, como descrito por [Da Silva et al. \(2016\)](#). O farelo de arroz foi adquirido da empresa Arrozmil (CNPJ: 02.051.957/0001-92). A solução rica em carboidratos e minerais utilizada foi a Czapek-Dox Broth (DIFCO), composta de 30,0 g/L de sacarose, 3,0 g/L de nitrato de sódio, 1,0 g/L de fosfato de dipotássio, 0,5 de sulfato de magnésio, 0,5 g/L de cloreto de potássio e 0,01 g/L de sulfato ferroso.

4.4.6 Pirólise

As etapas de pirólise foram conduzidas em parceria com o *Laboratório de Materiais Carbonáceos Multifuncionais* do *Departamento de Química* da *Universidade Estadual de Maringá* (LMCM/DQU/UEM), sob supervisão do Prof. Dr. Vitor de Cinque Almeida. O reator de aço inoxidável (tipo 304), utilizado para o processo de carbonização e ativação, é mostrado na [Figura 25](#). O reator possui uma tampa com orifícios nos dois extremos, para permitir a entrada e saída do gás. As tubulações utilizadas foram de 0,125 in para as conexões com os gases dos cilindros. O fluxo de gás foi aferido com um bolhômetro com marcações externas, que permitiram calcular o tempo em que uma bolha de sabão leva para percorrer marcações. A pirólise foi conduzida em mufla com temperatura programável (EDG Equipamentos EDG3P-S 7000).



Figura 25 – Reator utilizado para o processo de pirólise.

A etapa de carbonização foi inicialmente analisada em estopas de cânhamo com e sem pré-tratamento a partir do cultivo de fungos sem suplementação. O processo de carbonização foi conduzido utilizando um fluxo de gás N₂ de 100 mL/min, sob uma taxa de aquecimento de 20 °C/min até 500 °C e mantida na temperatura final por mais 1,5 h. Na sequência, a obtenção do CA foi avaliada em uma batelada em que após a carbonização a taxa de aquecimento voltou a subir de 500 a 850 °C a uma taxa de 20 °C/min. O fluxo de gás inerte foi então alterado para CO₂ sob a mesma vazão, após revisão adequada do mesmo via bolhometro. A ativação foi mantida por 1,5 h antes da etapa de resfriamento da amostra. A etapa de resfriamento em todos os processos de pirólise analisados foi conduzida sob atmosfera inerte, com uma taxa aproximada de -40 °C/min. A massa de precursor utilizada em cada uma destas três análises iniciais foi de 15,31 ± 0,02. O aumento de escala para a obtenção do CA foi avaliado posteriormente sob mesmas condições de análise.

A ativação física foi escolhida devido ao objetivo do estudo ser a utilização do CA para uma aplicação farmacológica, evitando assim resíduos químicos que possam interferir na análise de atividade anti-inflamatória. Além disso, o CO₂ foi escolhido dentre os métodos de ativação físicos porque não foram encontrados trabalhos prévios com o mesmo para a obtenção de adsorventes a partir de fibras de cânhamo.

Após a pirólise os adsorventes produzidos foram lavados com uma solução ácida de HCl (aq) 0,1 M para a remoção de possíveis cinzas. A solução foi preparada pela adição de aproximadamente 8,35 mL de HCl concentrado (Anidrol, d = 1,18 g/mL) para completar 1 L de solução. O adsorvente possui a característica de formar manta e por isso foi inicialmente lavado na forma de saia com 2 x 500 mL de HCl (aq), em uma incubadora a 175 rpm e 50 °C. Na sequência, foi conduzida uma lavagem utilizando o mesmo volume de água (2 x 500 mL) e secagem em estufa com ventilação forçada a 100 °C por 4 h. Utilizando um pilão e cadinho de porcelana o material foi facilmente pulverizado, sendo depois submetido a uma nova lavagem ácida (2 x 500 mL de HCl (aq) (pH 1,20 a 1,50). Por fim, o material foi lavado com água ultrapura em abundância até atingir o pH da mesma. Os adsorventes devidamente lavados foram filtrados utilizando membranas de acetato de celulose (0,45 mm), submetidos a secagem em estufa sem ventilação forçada a 105 °C por 24 h e armazenados em frascos fechados em um dessecador para posterior análise.

4.4.7 Caracterização dos adsorventes produzidos

As partículas dos adsorventes produzidos foram previamente selecionadas com uma peneira de 400 mesh. A caracterização destas foi aprofundada utilizando um

Analisador de Tamanho de Partícula à Laser (Bettersizer, S2-WD), sendo conduzida análises utilizando o dispositivo com e sem agitação ultrassônica e a 800 ou 1600 rpm. A análise de caracterização via *Fissorção de Nitrogênio* (QuantaChrome, Nova1200) também foi conduzida. A área superficial específica total foi calculada pelo modelo de Brunauer, Emmet e Teller (BET) – A_{BET} (Lowell e Shields, 1991). O volume de poros total foi definido como o volume que se encontra adsorvido na condição de saturação, que para a temperatura de 77 K ocorrem em pressão relativa próxima à unidade (Rouquerol et al., 1994). O volume de microporos foi obtido por meio da extrapolação dos gráficos do método t-plot nas regiões de saturação dos microporos (Figueiredo e Órfão, 2001) e o volume de mesoporos foi assumido como sendo a diferença entre o volume total dos poros e o volume dos microporos.

4.5 Complexação dos fármacos aos carreadores

A complexação do CBD e do IBU foi feita “*Em carvão ativado*” e “*Em b-ciclodextrina*”. Na sequência, foram conduzidas as análises qualitativas dos complexos: FTIR-ATR, “*Difratometria de raio-X (DRX)*” e “*Análise térmicas*”. Como informado previamente, sob autorização da ANVISA (Ofício nº 1902480211), algumas dessas analisadas foram conduzidas em parceria com a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Por fim, foi validada condições para suas quantificações via “*Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção via luz Ultravioleta (HPLC/UV)*”.

4.5.1 Em carvão ativado

Os experimentos de complexação em CA foram inicialmente conduzidos utilizando o IBU como insumo farmacêutico ativo (IFA). As análises foram iniciadas a partir do preparo de uma solução inicial de 690 mg/mL como descrito por Miriyala et al. (2017), porém, na sequência, foi também avaliado a utilização das concentrações de 500 e 250 mg/mL. As soluções iniciais foram preparadas pesando-se diretamente em balões volumétrico de 10 mL a massa de IBU necessária, seguido da adição necessário do volume de EtOH (PA). As soluções permaneceram em ultrassom o tempo necessário para sua completa homogeneização, sendo na sequência avaliado a filtração com e sem vácuo das mesmas. As análises foram conduzidas utilizando aproximadamente 500,0 mg do CA produzido em Erlenmeyers de 50 mL. O volume de 9 mL da solução de alta concentração foi adicionada ao mesmo e em seguida mantido em uma incubadora a 35 °C e sob agitação de 200 rpm por 24 h. A amostra foi filtrada (acetato de celulose, 0,45 mm) a vácuo e depois submetida a secagem a 40 °C por 24 h. Os parâmetros otimizados do experimento foram aplicados a complexação do CBD ao CA.

4.5.2 Em beta ciclodextrina

A beta ciclodextrina (bCD) utilizada para a complexação foi adquirida da Sigma Aldrich ($MM_{bCD} = 1134,98$). As condições de complexação utilizada foram baseadas em dados descritos por [Mannila et al. \(2007\)](#), na proporção molar CBD/bCD igual a 0,50 (1:2). A solução etanólica (HPLC) de 20 mg de CBD/mL foi preparada em um balão volumétrico de 10 mL, sendo o volume vertido em uma bureta de vidro após perfeita homogeneização. A proporção volumétrica de solução etanólica e solução aquosa descrita por [Szejtli \(1988\)](#), ou seja, 1:10, foi utilizada. A solução aquosa de 14,5 mg de bCD/mL ($MM_{CBD} = 314,47$ g/mol) foi preparada em um balão volumétrico de 100 mL, sendo o volume total vertido em um béquer de vidro após perfeita homogeneização. A solução aquosa foi mantida a temperatura ambiente sob agitação magnética constante durante 6 h, enquanto a solução etanólica foi adicionada gota a gota a esta após uma leve abertura na válvula de controle de volume da bureta. O béquer com o complexo formado foi resfriado a 5 °C por 1 h e depois foi filtrado a vácuo utilizando um filtro membrada (acetato de celulose, 0,45 mm). O complexo foi por fim seco por 12 h a 40 °C. As mesmas condições foram utilizadas para a complexação do IBU em bCD, porém, devido a $MM_{IBU} = 206,27$ g/mol, a proporção molar foi de 0,76.

4.5.3 Difratomia de Raio-X (DRX)

As análises de *Difratomia de Raio-X* (DRX) foram realizadas em parceria com o *Laboratório de Adsorção e Troca Iônica* (LATI/DEQ/UEM). Os experimentos foram conduzidos em um difratômetro Shimadzu LabX 6000 utilizando uma radiação CuK α . As medições foram determinadas com a voltagem de 40 kV e corrente de 30 mA utilizando tubo de Cu, com uma taxa de 2 ° min⁻¹ e intervalo com modo contínuo de 5 ≤ 2 θ ≤ 40.

4.5.4 Análises termogravimétricas

As análises de *Termogravimetria* (TG), *Termogravimetria Diferencial* (DTG) e *Calorimetria de Varredura Diferencial* (DSC) foram conduzidas em parceria com o Laboratório de Tecnologias Limpas – Laboratório de Refino do Instituto de Pesquisa em Petróleo e Energia da Universidade Federal de Pernambuco (LATECLIM-LABREFINO/LITPEG/UFPE). Os experimentos foram realizados em um analisador térmico simultâneo STA 449 F3 Jupiter® (NETZSCH), contendo de 5 a 8 mg de cada amostra em cadinhos de alumina. A programação da rampa de aquecimento foi de 25 a 900 °C à taxa de 20 °C min⁻¹, sob atmosfera de N₂ à vazão de 50 mL min⁻¹.

Além disso, em parceria com o *Laboratório de Planejamento e Síntese Aplicados à Química Medicinal* da Universidade Federal de Pernambuco (SINTMED/UFPE), foram realizadas análises utilizando um Fusiômetro (Gehaka, PF1500). Os experimentos foram

realizados após inserir as amostras sólidas em capilares previamente vedados sob fogo. As amostras foram submetidas a aquecimento de 45 a 300 °C, sob uma taxa de 20 °C/min. As imagens dos principais resultados foram devidamente registradas.

4.5.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção via luz Ultravioleta (HPLC/UV)

A quantificação via HPLC/UV foi escolhida, apesar de estudos prévios potencializando o carvão ativado como carreador terem sido conduzidos utilizando a espectrometria ultravioleta (Miriya et al., 2017; Yaneva, 2019). A HPLC/UV permite distinguir possíveis interferentes que possam ser detectados em um mesmo comprimento de onda, mas com diferentes capacidades de interagir previamente com a coluna de separação. Além disso, quando conduzida com um padrão interno adequado, pode minimizar variações de resposta intrínsecas ao próprio equipamento. Assim, as análises foram conduzidas utilizando o IBU como padrão interno na quantificação do CBD e vice-versa (o CBD como padrão interno na quantificação do IBU). Os pontos de cada curva de calibração foram obtidos a partir da mistura de 500 mL de soluções com concentrações entre 0,1 e 1,5 mg dos fármacos em mL de etanol e 500 mL de uma solução com 1 mg do padrão interno em mL de etanol. A mistura de volumes iguais possibilitou obter resultados com baixos desvios.

As análises foram conduzidas utilizando um cromatógrafo HPLC (Varian, 920-LC) provido de uma coluna C18 50 x 2,0 mm ; 2,8 µm (Varian Pursuit XRs ULTRA) e um detector ultravioleta. As análises foram conduzidas a partir da injeção de 2 µL de amostra. A fase móvel utilizada foi binária (A/B) e gradiente, sendo A constituída de água acidificada com ácido fórmico (0,1 %, pH \cong 3) (Magiera e Gülmez, 2014) e B de metanol (Panreac, 99,9 % IR/UV). A condição gradiente da fase móvel na coluna foi inicialmente 20 % de B por 0,5 min; variando de 20 a 98 % de B entre 0,5 e 3,5 min; mantido em 98 % de B entre 3,5 e 5,5 min; retornando para 20 % de B entre 5,5 e 7 min; e mantido em 20 % de B até 13 min. A fase móvel foi aplicada com uma vazão constante de 0,5 mL/min, sendo a coluna mantida em 30 °C. As amostras foram quantificadas utilizando o comprimento de onda de 220 nm.

A eficiência de complexação em CA foi aferida em triplicata a partir de uma alíquota de 10 mg do complexo adicionada a um balão volumétrico de 1 mL. O volume do balão foi completado com etanol (PA) e após 40 min de agitação em banho ultrasônico, com etapas intercaladas de 10 s a cada 5 min, a solução foi transferida para uma seringa descartável (3 mL) e filtrada (filtro seringa Analítica, PTFE hidrofílico 0,22 mm). Shoyama et al. (1983) demonstraram que uma mistura metanol/água de 1:1 pode ser utilizada para

analisar a eficiência de complexação com bCD, já que o fármaco tem alta solubilidade em álcool e a bCD em água. Entretanto, sólidos em suspensão foram observados após adicionar um volume igual de padrão interno em etanol puro. O dimetilsulfóxido (DMSO) foi escolhido para aferir a eficiência de complexação do fármacos em bCD, já com possui alta compatibilidade com o CBD (Cayman, 2015), IBU (Cayman, 2017), água e etanol (Gaylord, 2014).

4.6 Atividade antitumoral *in vitro*

A atividade antitumoral *in vitro* das diferentes formas do CBD, ou seja, pura, complexada em bCD e complexada em CA, bem como dos carreadores puros, foi analisada em parceria com o *Laboratório de Imunoparasitologia de Doenças Negligenciadas e Câncer da Universidade Estadual de Londrina (LIDNC/UEL)*, sob autorização da ANVISA (Ofício nº 1203249212). A linhagem celular HuH 7.5 (carcinoma hepatocelular) foi utilizada, já que ainda se encontra pouco explorada na literatura. As células foram cultivadas no meio Modified Eagle's Medium-low glucose (Gibco, catalog no. 12800-017) suplementado com soro bovino fetal de 10 % (GIBCO, cod: 12657029) e 1 % antibiótico e antimicótico (GIBCO, cod: 15240-062), sendo mantidas em forno úmido com atmosfera controlada de 5 % de CO₂ a 37 °C. A viabilidade celular acima de 85 % foi previamente verificada com azul de tripano em um contador de células (Life Technology).

As doses de tratamento foram semelhantes as descritas por Lv et al. (2019), que analisou a atividade citotóxica do CBD puro e complexado em bCD frente a outras linhagens de células. Os cinco tipos de tratamentos avaliados foram previamente preparados em soluções estoque e posteriormente diluídos para as diferentes concentrações. As soluções estoques foram preparadas a partir da aferição de 1 mg dos sólidos em eppendorfs, sendo posteriormente adicionado a estes 10 mL de DMSO e 990 mL de meio de cultura. A concentração de 1 mg / mL foi considerada, ou seja, foi considerado irrelevante o volume de 1 mg do sólido. A cisplatina foi utilizada como controle positivo. O grupo de controle de veículo foi elaborado com 0,06 % DMSO.

O efeito citotóxico dos tratamentos foi avaliado utilizando resazurina (7-hydroxy-3H-phenoxazine-3-one-10-oxide) em placas de 96 poços contendo 1 x 10⁴ célula/poço. As células foram tratadas com as concentrações de CBD equivalente a 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50 ou 100 µM, ou DMSO, ou cisplatina (50 µM), e incubadas por 48 h. Depois, após adição de resazurina (60 µM), incubadas por mais 2 h. A fluorescência foi medida em um espectrômetro Glomax® (excitação de 520 nm e emissão de 580-640 nm). A viabilidade celular foi estimada utilizando os valores de absorbância (*Abs*) descritos na [Equação 10](#).

onde A representa o valor da fluorescência. A concentração inibitória para 50 % das células (CI₅₀) foi calculada por regressão logarítmica, utilizando GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, EUA).

$$Viabilidade (\%) = \frac{(Abs_{tratamento} - Abs_{branco})}{(Abs_{controle} - Abs_{branco})} \cdot 100 \quad (10)$$

4.7 Atividade anti-inflamatória aguda *in vivo*

A análise da atividade anti-inflamatória aguda *in vivo* foi conduzida em três etapas. Primeiro foi realizado o “*Tratamento dos animais*” com diferentes doses dos fármacos puros e complexados, bem como dos carreadores puros. Na sequência, a atividade anti-inflamatória foi avaliada de forma direta a partir da “*Indução e controle do edema*” nos animais. Por fim, os tratamentos foram avaliados também de forma indireta a partir da “*Atividade da mieloperoxidase*”.

4.7.1 Tratamento dos animais

Os animais utilizados foram ratos machos da linhagem Wistar pesando entre 200 e 220 g mantidos em ambiente adequado (biotério setorial do Departamento de Farmacologia e Terapêutica da UEM), sob temperatura controlada de 23°C, com ciclo claro/escuro de 12 h, com água e alimento *ad libitum*. As análises foram realizadas no Laboratório de Inflamação (sala 106, 2º andar – Bloco K68) sob supervisão da Prof^a. Dr^a. Ciomar Aparecida Bersani Amado, seguindo metodologias utilizadas em trabalhos anteriores ([Wisniewski-Rebecca et al., 2015](#); [De Almeida et al., 2018](#)).

O tratamento dos animais utilizando o IFA puro ou complexado (IFA/CA ou IFA/bCD), dissolvido em carboximetilcelulose (CMC 0,5 %), foi realizado por via oral em dose única 1 h antes da indução inflamatória. O procedimento experimental que não necessitava da autorização da ANVISA, ou seja, os tratamentos com ibuprofeno, foi autorizado previamente pelo CEUA/UEM (nº 7125020919). Neste projeto foram aprovados doze grupos de animais: (i) sem tratamento; (ii) CMC; (iii; iv; v) 8,75; 17,5; 35 mg de IBU kg⁻¹; (vi) CA; (vii; viii) 8,75; 17,5 mg de IBU complexado em CA kg⁻¹; (ix) bCD; (x; xi; xii) 8,75; 17,5; 35 mg de IBU complexado em bCD kg⁻¹. Após formalização junto à ANVISA, dez grupos de animais a serem tratados com derivados de CBD também foram aprovados pelo CEUA/UEM (nº 4591170220): (xiii; xiv; xv) 8,75; 17,5; 35 mg de CBD kg⁻¹; (xvi; xvii; xviii) 8,75; 17,5; 35 mg de CBD complexado em CA kg⁻¹; (xix; xx; xxi; xii) 4,375; 8,75; 17,5; 35 mg de CBD complexado em bCD kg⁻¹. As doses dos IFA puros para o tratamento foram definidas considerando diferentes trabalhos descritos na literatura ([Costa et al., 2004](#)); ([Wisniewski-Rebecca et al., 2015](#)).

4.7.2 Indução e controle do edema

Os animais receberam uma injeção intraplantar (via intradérmica) de 100 µL de solução de carragenina (200 µg/pata) na pata posterior esquerda e o mesmo volume de veículo (salina 0,9 %) na pata posterior direita. O volume de ambas as patas foi determinado nos períodos de 1, 2 e 4 h após a aplicação do agente irritante, com o auxílio de um pletismógrafo, conforme técnica descrita por [Winter et al. \(1962\)](#) e [Paszczuk et al. \(2008\)](#). O aumento do volume final da pata foi calculado subtraindo o volume da pata injetada com salina (pata controle) pelo da pata injetada com o agente flogístico.

4.7.3 Atividade da mieloperoxidase

A atividade da mieloperoxidase (MPO) foi avaliada utilizando o sobrenadante de homogenato do tecido plantar. Os animais foram eutanasiados após 4 horas da indução do edema de pata pela injeção de carragenina, administrando alta dose de anestésico (isoflurano 5 %), e o tecido plantar da pata esquerda foi retirado e colocado em tubo eppendorf contendo 0,6 mL de solução tampão fosfato-salino (PBS, 4 mM, pH 5,4). A amostra foi homogeneizada com o auxílio de um *homogeneizador de Potter*. O homogenato foi centrifugado à 6000xG e 4 °C durante 15 minutos. O sobrenadante foi imediatamente separado e estocado a -70 °C até o dia da análise.

Seguindo a técnica descrita por [Bani et al. \(1998\)](#), o sobrenadante do homogenato do tecido plantar (0,1 mL) foi colocado em uma microplaca de 96 cavidades, em triplicada, sendo, posteriormente, adicionado 2,9 mL de uma solução de PBS a 50 mM, pH 6, contendo 0,19 mg/mL de cloridrato de O-dianidissina e 0,0005 % de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). A reação foi interrompida com uma solução de acetato de sódio 1,46 M (pH 3) e a atividade da enzima foi determinada pela técnica de ponto final, através da medida da absorbância em comprimento de onda de 460 nm.

5 Resultados e discussão

O quinto capítulo apresenta os resultados e discussões dessa tese. Os resultados dos *Testes colorimétricos* e *Cromatografia de Camada Delgada (CCD)* foram publicados no periódico *Forensic Science* (Grijó et al., 2021). Os resultados das análises de "Ressonância Magnética Nuclear (RMN)" serão publicados na *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* (Vol. 51, Nº. 2, agosto de 2022), tendo sido também importantes para um melhor esclarecimento sobre as características dos diferentes enantiômeros do CBD. Essas características e conseqüentemente propriedades físico-químicas específicas foram abordadas em um artigo de revisão publicado no periódico *Brazilian Journal of Chemical Engineering* (Grijó et al., 2022). Os principais resultados que demonstram as diferentes atividades farmacológicas dos ativos puros e complexados serão submetidos brevemente a um periódico especializado.

5.1 Aperfeiçoamento de testes rápidos para identificar derivados de *Cannabis*

5.1.1 Testes colorimétricos

A [Figura 26](#) mostra os resultados das análises prévias feitas com a variedade $\beta 2$ que serviram para definir se o teste modificado de Duquenois proposto seria conduzido com amostras sólidas ou extratos, bem como se a concentração de vanilina em solução etanólica seria de 20 ou 80 mg/mL. As imagens foram capturadas durante a sequência de etapas: I) extrato da amostra inicial (com ou sem sólido); II) após adição de HCl; III) após 10 min da adição do ácido; IV) após adição de CHCl_3 e 2 min de repouso; V) fase solubilizada em CHCl_3 , ou seja, fase inferior da etapa IV. As análises em que a amostra sólida não foi removida apresentam apenas as imagens das últimas etapas, ou seja, etapa IV e etapa V.

Foi possível observar que a utilização da amostra sólida, em vez do extrato obtido dela, prejudica a obtenção da cor violeta originalmente descrita nos testes derivados de Duquenois ([Tabela 2](#)). Isso possivelmente ocorre devido à interação de parte do ácido com a amostra sólida. O tom de transição entre as cores azul e verde observado é o mesmo descrito na literatura que propôs o teste rápido DL, ao qual a amostra sólida também é mantida no meio de reação. A visualização de uma coloração violeta mais intensa foi possível após adicionar HCl nos extratos obtidos com uma solução etanólica mais concentrada em vanilina (80 mg/mL). Entretanto, a identificação pôde ser realizada mesmo com extratos obtidos com menor concentração desse aldeído (20 mg/mL).

Os resultados obtidos a partir das análises com condições otimizadas das 21 amostras são apresentados na [Figura 27](#). O controle (#0) apresentou uma leve cor violeta

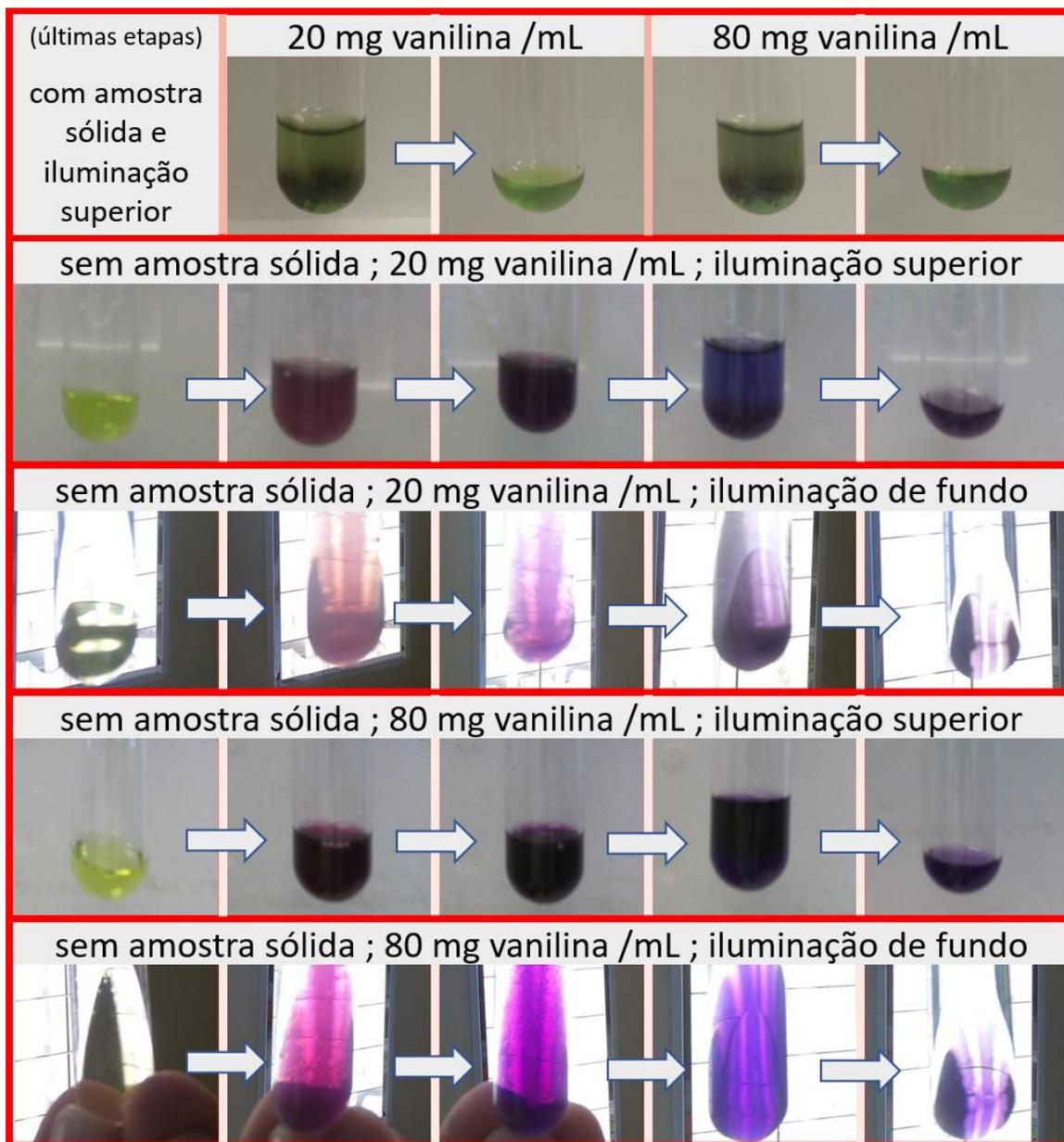


Figura 26 – Resultados das análises de otimização de parâmetros do teste colorimétrico (variedade β_2).

após adição do ácido, mas que não foi transferida para a fase apolar de clorofórmio. As amostras de sal (#2), açúcar (#3), ibuprofeno (#4), erva mate (#13) e wasabi (#15) não apresentaram alteração significativa de cor em comparação ao controle.

Embora o [UNODC \(2009\)](#) não tenha descrito resultados de análises de canabinóides puros por meio de testes colorimétricos derivados de Duquenois, é possível observar que a cor violeta foi obtida após a adição do ácido na amostra de CBD puro não sintético solubilizado em etanol (#1). Além disso, que a cor foi significativamente transferida para a fase não polar (inferior) após a adição de clorofórmio. Essa mesma característica foi observada para as quatro variedades de flores de *Cannabis* analisadas

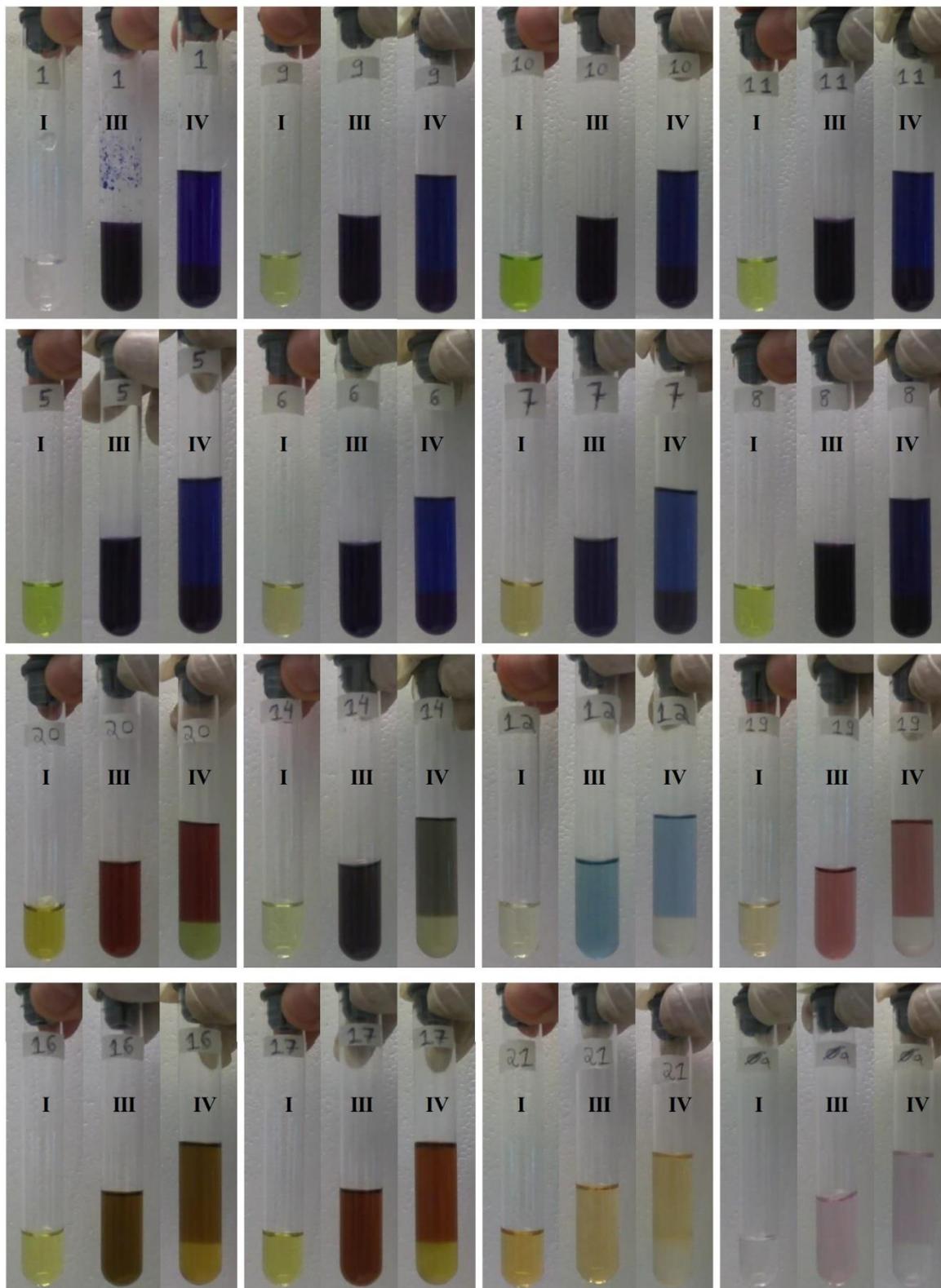


Figura 27 – Resultados das análises do teste colorimétrico com parâmetros otimizados: etapa I - após a coleta do extrato etanólico centrifugado (utilizando 20 mg vanilina/mL); etapa III - após 10 min da adição do ácido; etapa IV - após adição de clorofórmio e 2 min de repouso. Nota: amostras identificadas no tópico 4.2.1.

($\alpha_1 = \#9$; $\alpha_2 = \#10$; $\beta_1 = \#11$; $\beta_2 = \#5$). Observou-se também que houve uma pequena perda da intensidade da cor violeta para as amostras da variedade β_2 aquecidas a 140 °C por 30 (#6) e 240 min (#7), porém a cor foi mais intensa para a amostra de "kief" obtida da mesma variedade (#8). O eucalipto (#14), descrito como "falso positivo" por Kelly et al. (2012), foi o único que apresentou, após adição do ácido, cor similar a obtida por derivados de *Cannabis*, mas em nenhuma amostra houve uma transferência de cor semelhante para a fase apolar.

O resultado obtido do CBD através da análise colorimétrica utilizando o "teste 4-AP" é mostrado na Figura 28. Após os dois minutos de reação, a análise apresentou uma coloração rosa característica de uma amostra derivada de "cânhamo industrial" ("industrial hemp"). Este resultado é satisfatório considerando a descrição do fabricante do bioativo (Isodiol). Essa mesma cor também foi descrita por Lewis et al. (2021) após analisar uma amostra de CBD puro via "teste 4-AP". Entretanto, é possível observar que após a reação e mais 10 min de repouso a cor se tornou roxa ("violeta"). Embora os autores e as instruções do produto não tenham descrito uma etapa repouso de 10 min, este é um procedimento padrão do "teste DL" como descrito por Bailey (1979) e UNODC (2009). Lewis et al. (2021) descreve, utilizando a mesma quantidade de amostra inicial, ter obtido uma cor roxa para amostras com quantidades semelhantes de CBD e Δ^9 -THC, bem como para amostras puras de CBDA ou CBVA (ácido canabidivarínico). Por outro lado, a embalagem do produto recomenda diminuir a quantidade de amostra e repetir a análise quando for observada uma cor roxa.

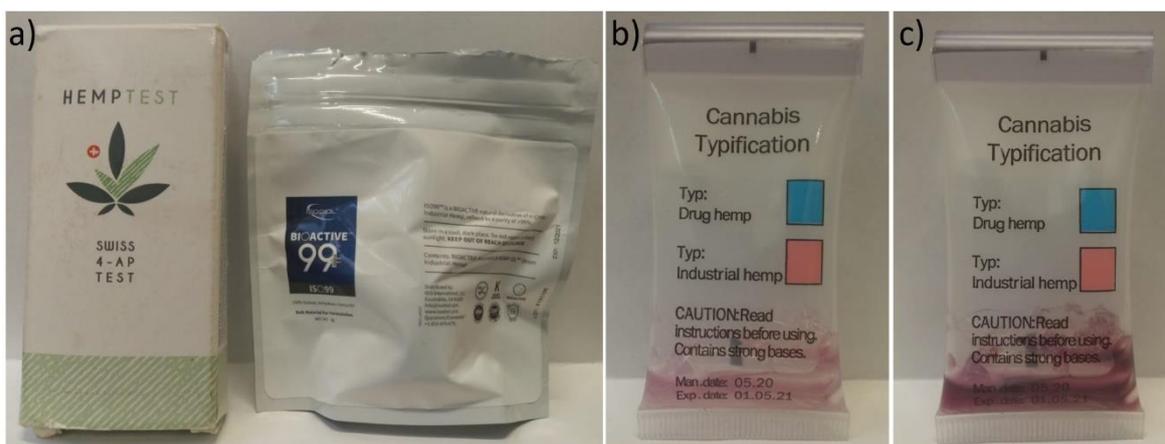


Figura 28 – Resultado da análise do CBD via "teste 4-AP" comercial (HEMPTEST): (a) produtos utilizados; (b) após reação (2 min de agitação); (c) após a reação e 10 min de repouso.

5.1.2 Cromatografia de Camada Delgada (CCD)

A Figura 29 apresenta as placas CCD utilizadas para analisar os diferentes padrões canabinóides, sendo os resultados obtidos comparados na Tabela 11. Os valores experimentais dos fatores de retenção relativos (R_F^r), bem como os valores dos momentos de dipolo (μ) e coeficientes de partição octanol/água ($\log P_{OW}$) estimados por mecânica quântica foram detalhados. A comparação também foi realizada utilizando dados previamente descritos na literatura (Yaws et al., 1999; Dos Santos et al., 2016).

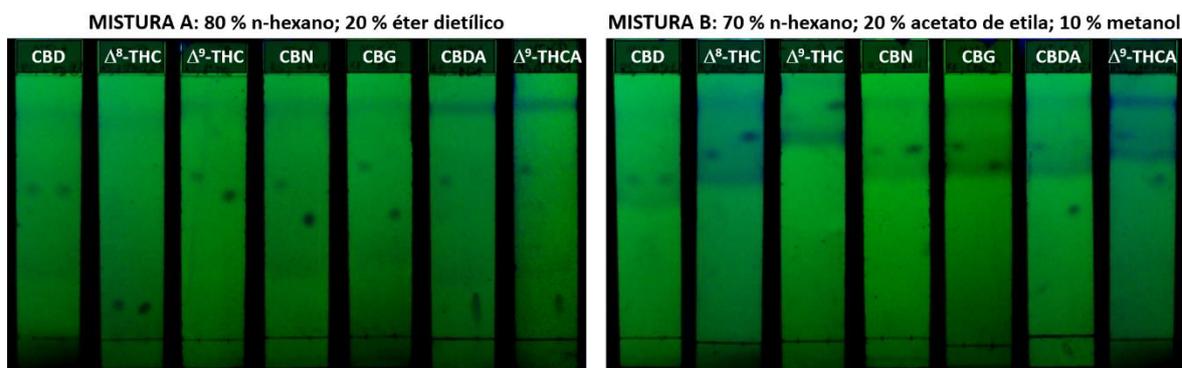


Figura 29 – Resultados das análises de diferentes canabinóides puros via CCD. Nota: Em cada placa o ponto à esquerda refere-se a uma solução padrão de CBD (Isodiol) e o da direita ao canabinóide analisado.

Tabela 11 – Comparação entre os valores dos fatores de retenção relativos (R_F^r) obtidos via CCD, bem como dos momentos dipolo (μ) e coeficientes de partição octanol/água ($\log P_{OW}$) estimados por mecânica quântica.

SOLVENTE	μ (D)	μ (D)*	Mistura A	Mistura B	Dos Santos et al. (2016)
n-Hexano	0,00	0,00	80 %	70 %	-
Éter etílico	1,03	1,15	20 %	-	-
Acetato de etila	1,96	1,78	-	20 %	-
Metanol	1,69	1,70	-	10 %	-
Ciclohexano	0,00	0,61	-	-	75 %
Tolueno	0,32	0,36	-	-	15 %
Dietilamina	0,89	0,92	-	-	10 %
μ_{mix} (D)	-	-	0,21	0,56	0,14
μ_{mix} (D)*	-	-	0,23	0,53	0,60
PADRÃO	μ (D)	$\log P_{OW}$	R_F^r (Fator de Retenção Relativo)		
CBD	1,67	5,91	1,00	1,00	1,00 [§]
Δ^8 -THC	1,15	5,53	0,91	1,09	-
Δ^9 -THC	0,88	5,53	0,89	1,06	1,22 [§]
CBN	1,43	6,07	0,78	1,00	1,10 [§]
CBG	1,55	6,53	0,73	0,91	-
CBDA	3,30	5,47	[0,09~0,30] [‡]	0,68	-
Δ^9 -THCA	4,70	5,08	[0,14~0,28] [‡]	0,80	-

Nota: * (Yaws et al., 1999); [§] valores calculados utilizando dados da literatura; [‡] indefinido.

O fator de retenção do padrão de referência (CBD) variou durante análises utilizando a mesma mistura de solventes. A utilização de frascos não específicos para a análise CCD pode ter influenciado nesta variação. Entretanto, replicatas demonstraram que os valores dos fatores de retenção relativos (R_F^r) apresentados são reprodutíveis. Os valores de momento dipolo (μ) estimados para os solventes foram relativamente consistentes aos descritos experimentalmente por [Yaws et al. \(1999\)](#), mas uma considerável discrepância foi observada para o ciclohexano.

A mistura A não apresentou polaridade suficiente para eluir os dois canabinóides ácidos analisados. Isso pode estar relacionado ao baixo valor de μ da mistura A, incapaz de substituir a forte interação desses canabinóides com sílica gel (fase estacionária polar) devido aos seus altos valores de μ . Valores semelhantes de μ para os canabinóides ácidos analisados foram descritos na literatura usando metodologia comparável ([He et al., 2020](#)). A boa separação de canabinóides neutros usando esta mistura de solventes está simultaneamente relacionada aos seus valores de μ e $\log P_{OW}$. O CBD tem um μ maior do que ambos "THC neutros" e, portanto, apresenta uma maior afinidade a fase estacionária do que estes. Entretanto, devido ao seu maior caráter lipofílico ($\log P_{OW}$), foi consideravelmente mais arrastado por esta mistura pouco polar. Por outro lado, CBG e CBN foram menos eluidos que CBD, mesmo com menor μ e maior $\log P_{OW}$, mostrando que a leve polaridade da mistura favoreceu canabinóides com valores intermediários de $\log P_{OW}$.

O aumento do μ da mistura B o torna um meio carreador com menor característica lipofílica. Nesse caso, observou-se que os valores de μ dos canabinóides lipofílicos (alto valor de $\log P_{OW}$) definiram suas características de eluição. A menor interação do CBN com a fase estacionária permitiu que seu R_F^r se tornasse igual ao do CBD. Por outro lado, o R_F^r do CBG permaneceu menor do que o do CBD devido aos seus valores próximos de μ . As mudanças observadas para os menos lipofílicos foram que os dois "THC neutros" passaram ter R_F^r maior que o do CBD e que os canabinóides ácidos passaram a ter R_F^r com valores bem definidos. De maneira análoga, o $\mu_{MIX, Dos Santos et al. (2016)} = 0,60$ maior que o $\mu_{MIX, B} = 0,53$ tornou o R_F^r do CBN maior que o do CBD. É possível notar a importância da fase móvel ser uma mistura, já que a utilização de clorofórmio puro descrita em literatura ([Dos Santos et al., 2016](#)) ($\mu_{experimental} = 1,01 D$ ([Yaws et al., 1999](#))) não foi adequada para diferenciar o CBD, Δ^9 -THC e CBN.

A [Figura 30](#) mostra os resultados obtidos com amostras *in natura* e descarboxiladas da variedade $\beta 2$. Em geral, os resultados das quatro variedades não apresentaram diferenças significativas ([Figura 31](#)). O teor de óleo por prensagem a

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexo em carreadores

quente obtido dessa variedade, $7,59 \pm 2,21$ %, foi maior ao obtido com amostras descarboxiladas, $2,01 \pm 1,05$ %. O teor de óleo obtido por extração com etanol foi de 28,30 %.

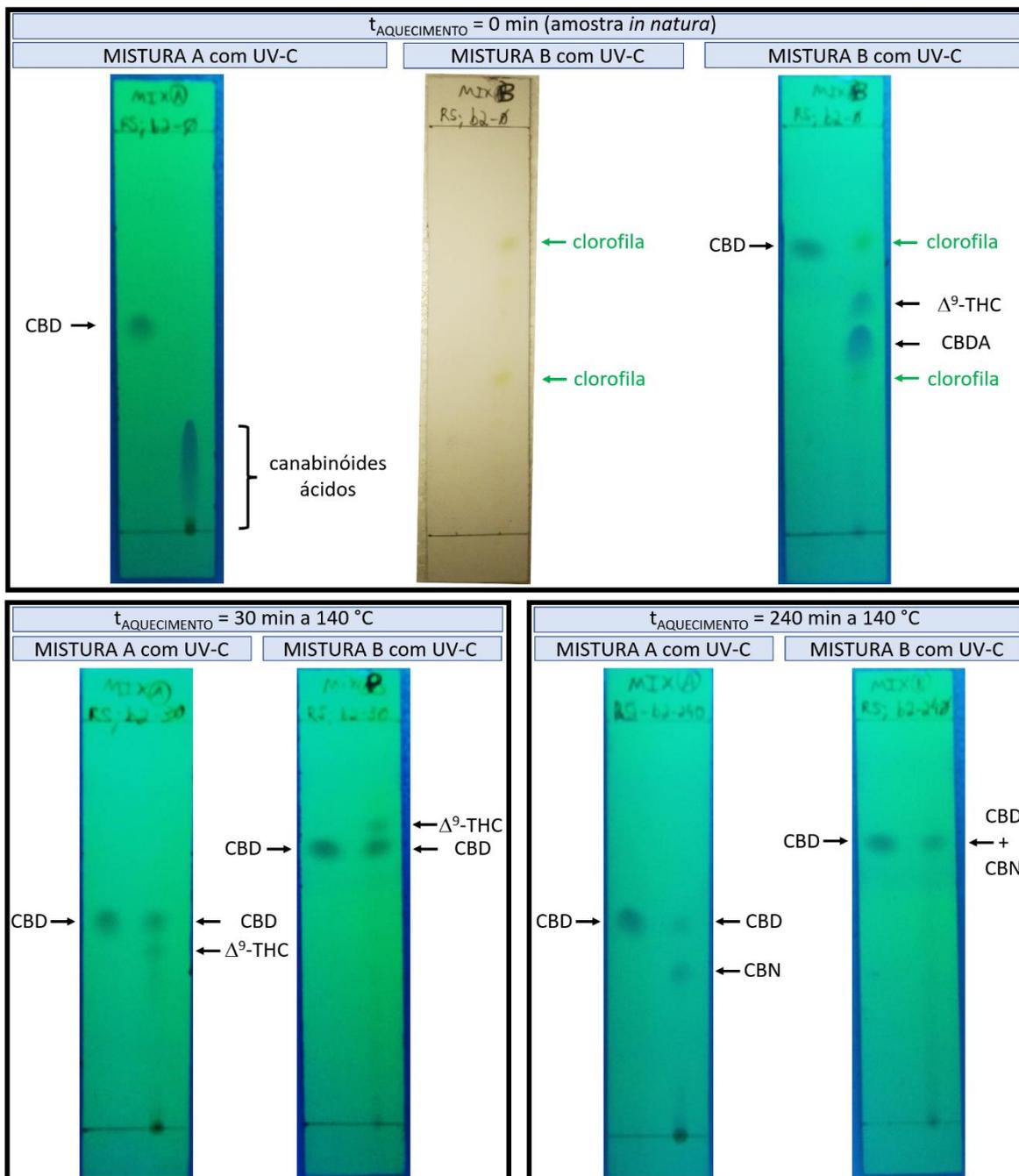


Figura 30 – Resultados obtidos das análises por CCD utilizando amostras (variedade $\beta 2$) *in natura* (sem aquecimento) e descarboxiladas (aquecidas a $140 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 e 240 min). Em todas as análises, o CBD (Isodiol) foi usado como padrão de referência (“RS” = “reference standard”).

As amostras *in natura* (sem aquecimento) demonstraram, como esperado, apresentar majoritariamente canabinóides ácidos. A mistura A foi ineficiente para identi-

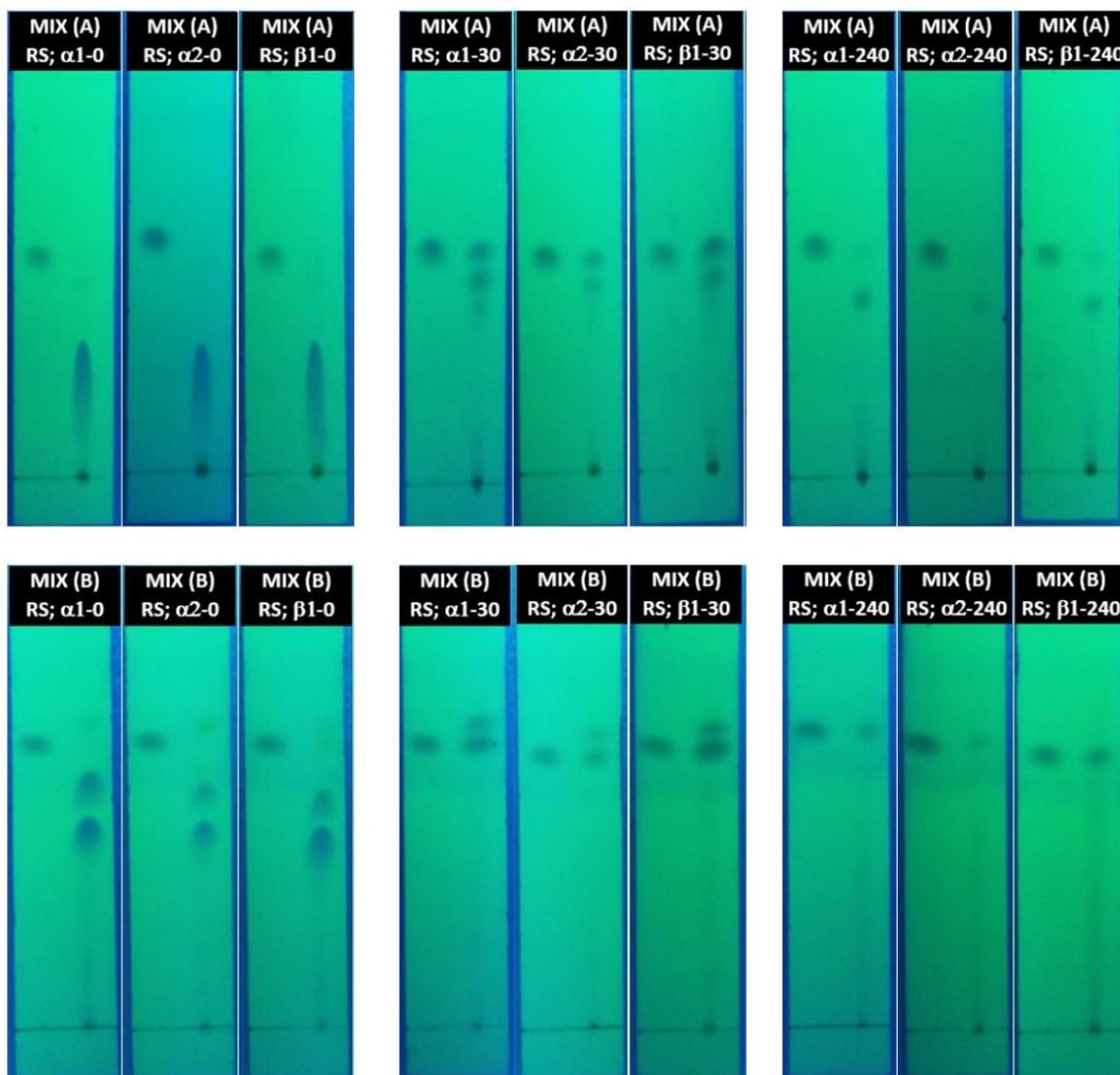


Figura 31 – Resultados obtidos nas análises por CCD utilizando amostras de outras variedades (α_1 , α_2 e β_1) *in natura* (sem aquecimento = "0") e descarboxiladas (aquecido a 140 ° C por "30" e "240" min). Em todas as análises, o CBD (Isodiol) foi usado como padrão de referência ("RS" = "reference standard").

car se as amostras analisadas continham os dois canabinóides ácidos ou apenas um deles. Por outro lado, a mistura B permitiu identificar que os dois canabinóides ácidos, CBDA e Δ^9 -THCA, estão presentes nas quatro variedades *in natura*. Notou-se ainda que a utilização da mistura B, mais polar, permitiu identificar compostos sem o uso da luz ultravioleta tipo C (UV-C). As clorofilas A e B presentes na planta (Ali et al., 2019) são possivelmente esses compostos, e é necessário cuidado para não confundir seus R_F com os dos canabinóides.

A análise sem luz UV-C das placas com amostra aquecida por 30 e 240 min não apresentou indícios de clorofilas. Os resultados das amostras descarboxiladas a 140 °C

por 30 min permitem confirmar (Grijó et al., 2019b-c) que essas condições são suficientes para transformar os canabinóides ácidos, CBDA e Δ^9 -THCA, em seus respectivos canabinóides neutros ativos, CBD e Δ^9 -THC. A mistura A permite identificar que o aquecimento a 140 °C por 240 min é excessivo e que basicamente resta apenas CBN (produto de degradação térmica) nas amostras. No entanto, a mistura B pode dar uma falsa impressão de que este é um tempo de aquecimento ideal e que a amostra contém apenas CBD. A mistura B se mostrou inadequada para a análise de canabinóides neutros e, conseqüentemente, para amostras descarboxiladas, pois não permite diferenciar o CBD do CBN.

5.2 Análise detalhada da estrutura 3D do CBD e de sua inibição à COVID-19 *in silico*

5.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

O espectro RMN- ^1H obtido é mostrado na Figura 32. O deslocamento $\delta = 7,26$ ppm é referente ao solvente, ou seja, ao clorofórmio deuterado, e o deslocamento $\delta = 5,57$ ppm, como descrito por Choi et al. (2004), foi utilizado como referência para a integral equivalente a um próton. O total de 30 prótons, como esperado, foi observado na amostra, sendo o $\delta = 3,86$ ppm equivalente a um próton como descrito por Mechoulam e Shvo (1963).

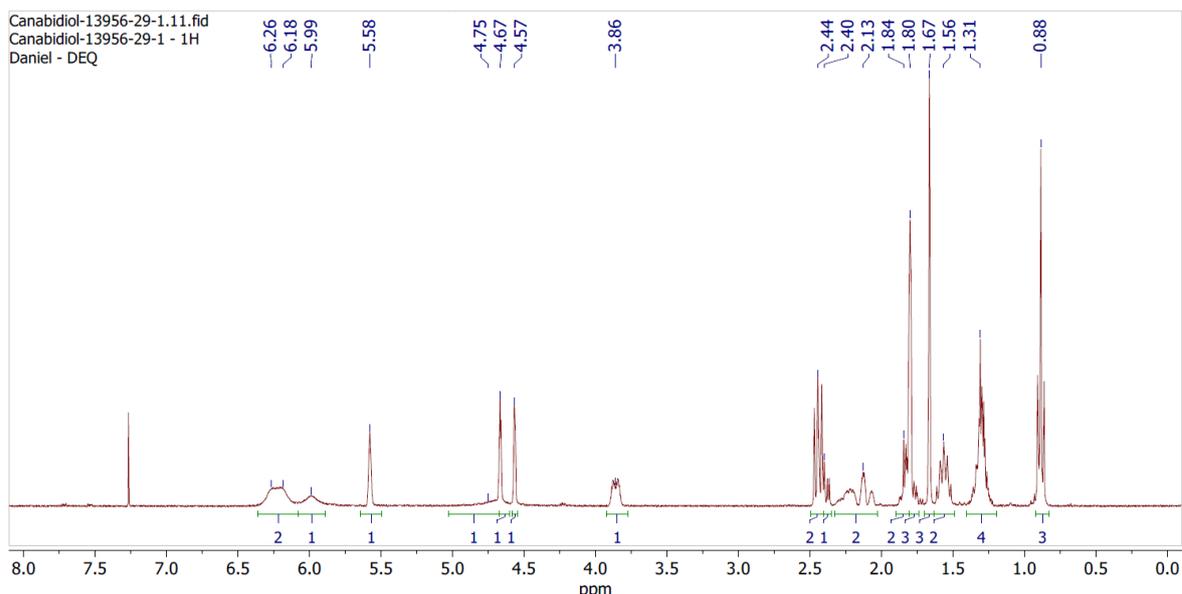


Figura 32 – Espectro RMN- ^1H da amostra (-)-CBD.

O espectro RMN- ^{13}C , mostrado na Figura 33, permite confirmar o total de 21 carbonos na amostra. Os sinais de deslocamento entre 75 e 80 ppm estão relacionados ao clorofórmio deuterado.

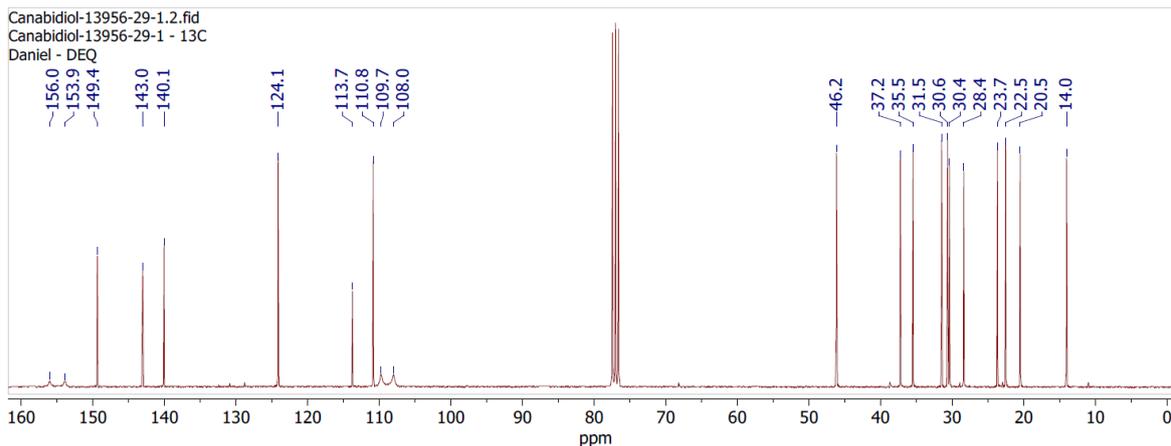


Figura 33 – Espectro RMN-¹³C da amostra (-)-CBD.

O espectro RMN DEPT 135, mostrado na [Figura 34](#), permite observar, por picos negativos, que 7 carbonos são CH₂, e, por picos positivos, que 6 carbonos são CH ou CH₃. Portanto, o espectro identifica apenas 13 dos 21 carbonos da amostra.

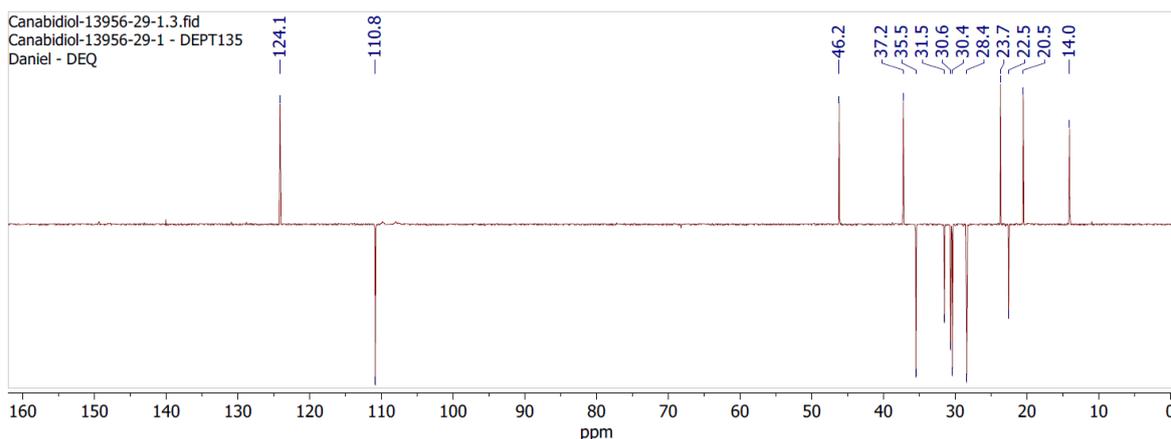


Figura 34 – Espectro RMN DEPT 135 da amostra de (-)-CBD: negativo = CH₂; positivo = CH ou CH₃.

O espectro RMN HSQC, mostrado na [Figura 35](#), permite identificar, em azul, quais prótons estão relacionados aos 7 grupos CH₂ da amostra. O espectro também permite identificar, em vermelho, que existem 3 grupos CH e 3 grupos CH₃ na amostra.

Os espectros RMN HMBC ([Figura 36a](#)) e RMN COSY ([Figura 36b](#)), que demonstram interações escalares de prótons à carbonos e a outros prótons, respectivamente, possibilitam identificar a localização exata de cada átomo na estrutura plana da amostra, confirmando a estrutura molecular do CBD elucidada por [Mechoulam e Shvo \(1963\)](#) via análises de rotação ótica e RMN-¹H. Apenas os resultados da diagonal superior do espectro COSY são demonstrados, já que este está relacionado a interações homonucleares. Os espectros permitem confirmar que no total são 5 grupo CH na molécula, e não apenas os 3 mostrados pelo espectro HSQC.

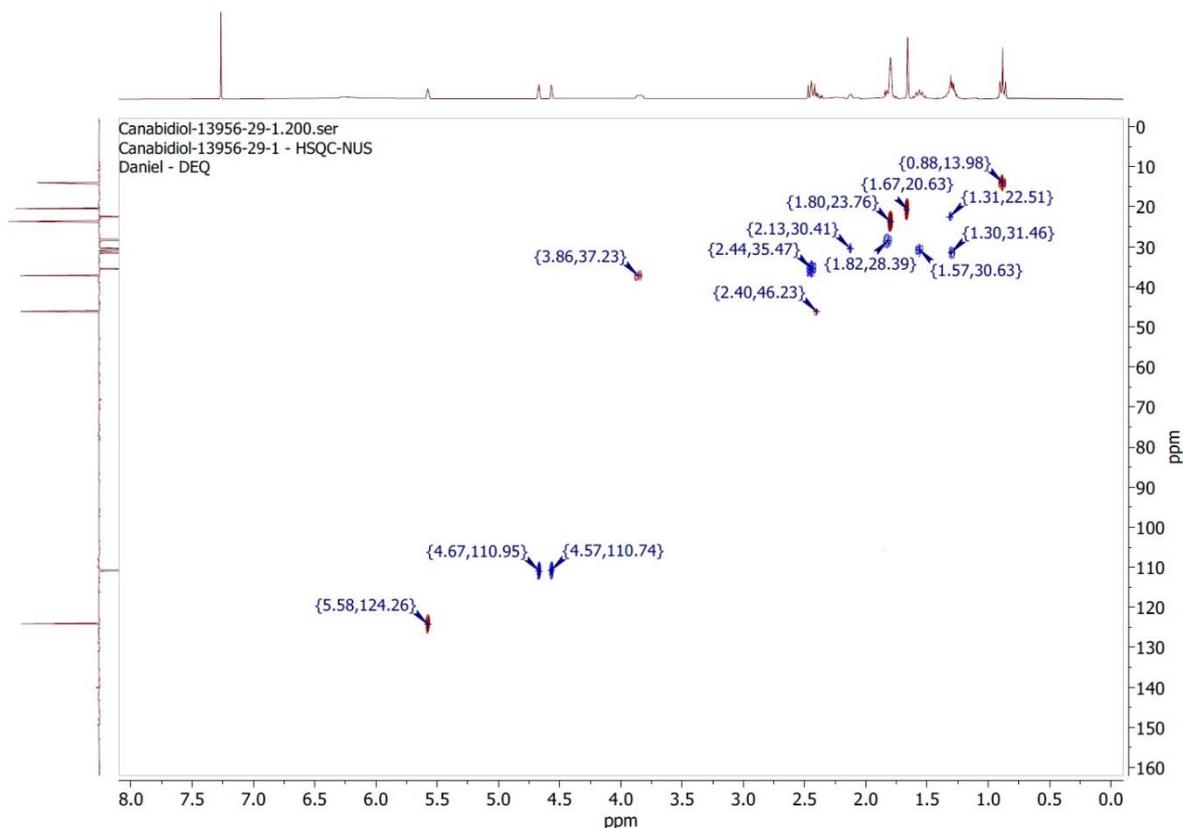


Figura 35 – Espectro RMN HSQC da amostra de (-)-CBD: azul = CH₂; vermelho = CH ou CH₃.

Os deslocamentos obtidos pelas técnicas RMN-1D utilizadas, ou seja, ¹H e ¹³C, bem como a confirmação do arranjo molecular da amostra utilizando as técnicas RMN-2D DEPT 135, HSQC, HMBC e COSY, permitem confirmar que a amostra é de CBD e não de seu isômero psicotrópico Δ^9 -THC. A escolha de uma identificação numérica equivalente para os átomos dos isômeros, como feita por Choi et al. (2004) (Figura 37), permite enxergar características para diferenciá-los a partir de análises RMN (Tabela 12).

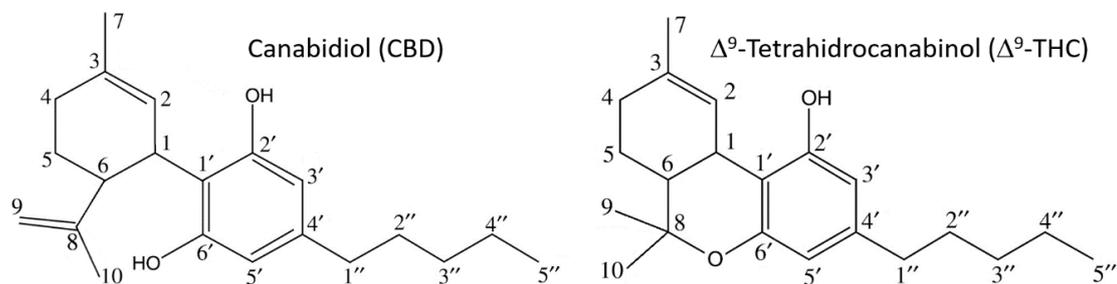


Figura 36 – Estruturas planares dos isômeros CBD e Δ^9 -THC (Choi et al., 2004 – adaptada).

Os dados ¹H-RMN permitem identificar qualitativamente o CBD devido às características de $\delta^1\text{H}$ da P₉, P₁, P₂ e P_{2'}-OH, que também são possíveis de serem observadas a partir dos dados de Mechoulam e Shvo (1963) e Gaoni e Mechoulam (1964).

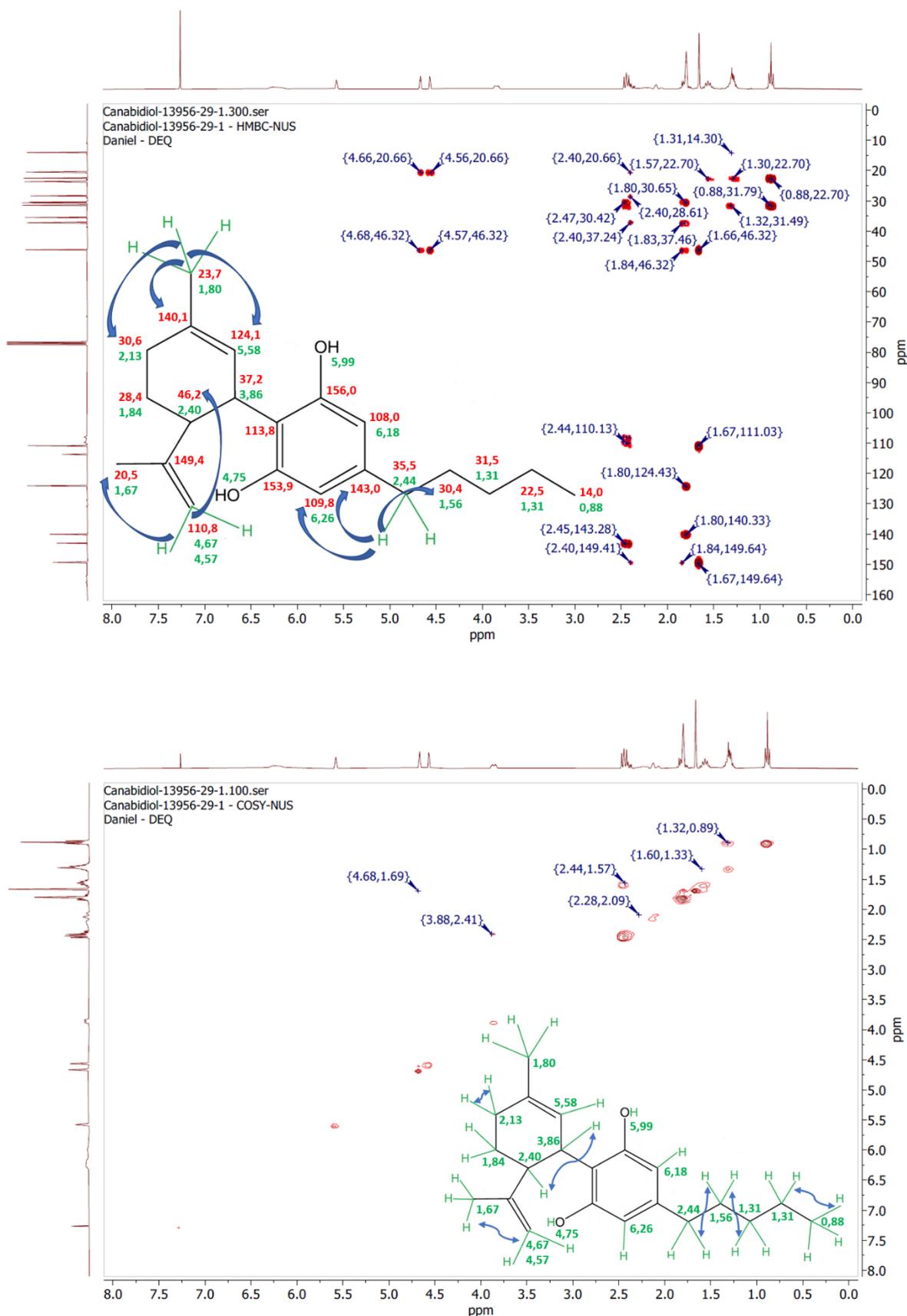


Figura 376 – Espectros RMN-2D com correlações escalares de prótons da amostra (-)-CBD: a) HMBC (heteronuclear: ^1H , ^{13}C); b) COSY (homonuclear: ^1H , ^1H).

Tabela 12 – Dados experimentais das análises RMN do CBD comparados aos descritos em literatura ($\delta^1\text{H}$ e $\delta^{13}\text{C}$ em ppm).

Posição (P)	RMN- ^1H			RMN- ^{13}C		
	Choi et al. (2004)		Obtido	Choi et al. (2004)		Obtido
	CBD	Δ^9 -THC	(-)-CBD	CBD	Δ^9 -THC	(-)-CBD
5'	6,26 (1H)	6,27 (1H)	6,26 (2H)	108,3	110,1	109,8
3'	6,16 (1H)	6,14 (1H)	6,18	108,3	107,5	108,0
2'-OH	5,99 (1H)	4,87 (1H)	5,99 (1H)	-	-	-
2	5,57 (1H)	6,31 (1H)	5,58 (1H)	127,3	123,7	124,1
6'-OH	5,02 (1H)	-	4,75 (1H)	-	-	-
9	4,64 (1H ^{trans})	1,41 (3H)	4,67 (1H ^{trans})	110,5	27,6	110,9
	4,54 (1H ^{cis})		4,57 (1H ^{cis})			
1	3,90 (1H)	3,20 (1H)	3,86 (1H)	37,5	33,6	37,2
1''	2,43 (2H)	2,42 (2H)	2,44 (2H)	36,6	35,5	35,5
6	2,40 (1H)	1,69 (1H)	2,40 (1H)	46,4	45,8	46,2
4	2,21 (1H)	2,16 (2H)	2,21 (1H)	31,7	31,2	30,6
	2,09 (1H)		2,07 (1H)			
5	1,84 (2H)	1,90 (1H)	1,84 (2H)	30,7	25,0	28,4
		1,40 (1H)				
7	1,79 (3H)	1,68 (3H)	1,80 (3H)	23,7	23,4	23,7
10	1,66 (3H)	1,09 (3H)	1,67 (3H)	19,5	19,3	20,5
2''	1,55 (2H)	1,55 (2H)	1,56 (2H)	32,0	30,3	30,4
3''	1,29 (2H)	1,29 (2H)	1,31 (4H)	32,6	31,5	31,5
4''	1,29 (2H)	1,29 (2H)		23,6	22,5	22,5
5''	0,88 (3H)	0,87 (3H)	0,88 (3H)	14,4	14,0	14,0
2'				157,5	154,7	156,0
6'				150,3	154,2	153,9
8				150,3	76,7	149,4
4'				142,7	142,8	143,0
3				134,2	134,3	140,1
1'				115,9	110,8	113,8

O valor obtido do $\delta^1\text{H}$ da P6'OH com uma pequena diferença também foi descrito por Hazekamp et al. (2004), SWGDRUG (2005), Moore et al. (2016) e Grijó e Motta Lima (2019). A análise unidimensional (RMN-1D) dos núcleos de carbonos também se mostrou adequada para a diferenciação destes isômeros, já que permitiu observar um $\delta^{13}\text{C}$ específico para a P9 e P8. Além disso, através dos espectros DEPT 135 e HSQC, é possível confirmar o grupo =CH₂ da P9.

As importantes características da estrutura 3D do (-)-CBD não sintético elucidada pela técnica de difração de raio-X por Jones et al. (1977); Ottersen et al. (1977) e revisada por Mayr et al. (2017) também puderam ser observadas neste trabalho a partir do espectro NOESY (Figura 38). Apesar das análises da estrutura cristalina do canabidiol terem sido descritas não se observa um consenso da estrutura 3D em outros trabalhos (Leite et al., 1982; Borges et al., 2013; Morales et al., 2017) Jung et al., 2019).

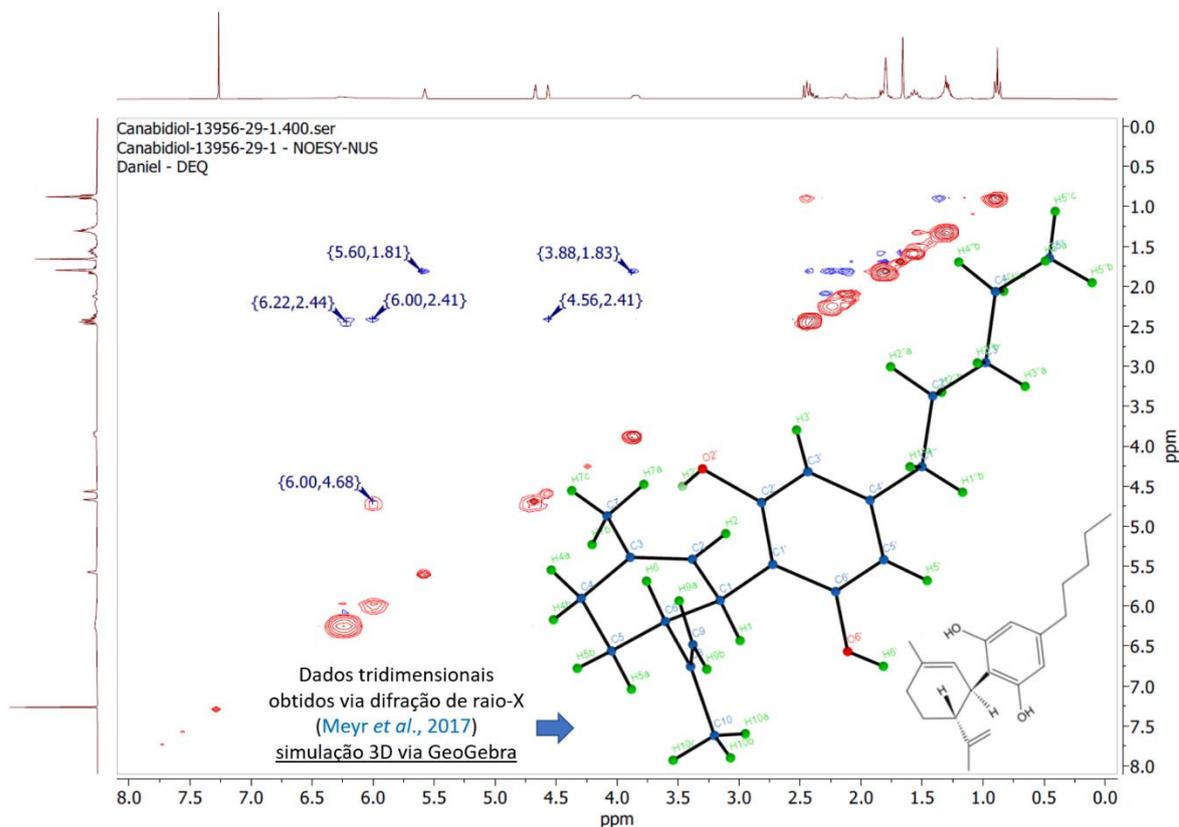


Figura 38 – Espectro RMN NOESY: diagonal superior = dados obtidos; diagonal inferior = simulação de dados.

A comparação entre o espectro espacial e os espectros de relações escalares permite observar características interessantes do enantiômero (-)-CBD. Os espectros COSY e HMBC demonstram explicitamente e implicitamente, respectivamente, que os hidrogênios da P1 e P6, por exemplo, estão próximo de maneira escalar, porém o espectro NOESY mostra que estes prótons não estão espacialmente próximo e/ou orientados para o mesmo sentido. As interações espaciais do hidrogênio da P2'-OH, mostradas no espectro NOESY, também são “exclusivas”, ou seja, não são detectadas nos espectros escalares. A distância de 3,79 Å desse hidrogênio, em relação ao hidrogênio da P9, e de 2,24 Å, em relação ao hidrogênio da P6, foram observadas ao plotar no software GeoGebra (<https://www.geogebra.org/3d>) dados de difração de raio-X descritos por [Mayr et al. \(2017\)](#), comprovando distâncias menores que 4 Å detectadas pelo NOESY.

5.2.2 Inibição à COVID-19 *in silico*

O escore obtido com a simulação *docking* do ligante de referência X77 foi de -8,37 ± 0,05 kcal/mol. Logo, uma molécula candidata a inibidor não covalente deve possuir

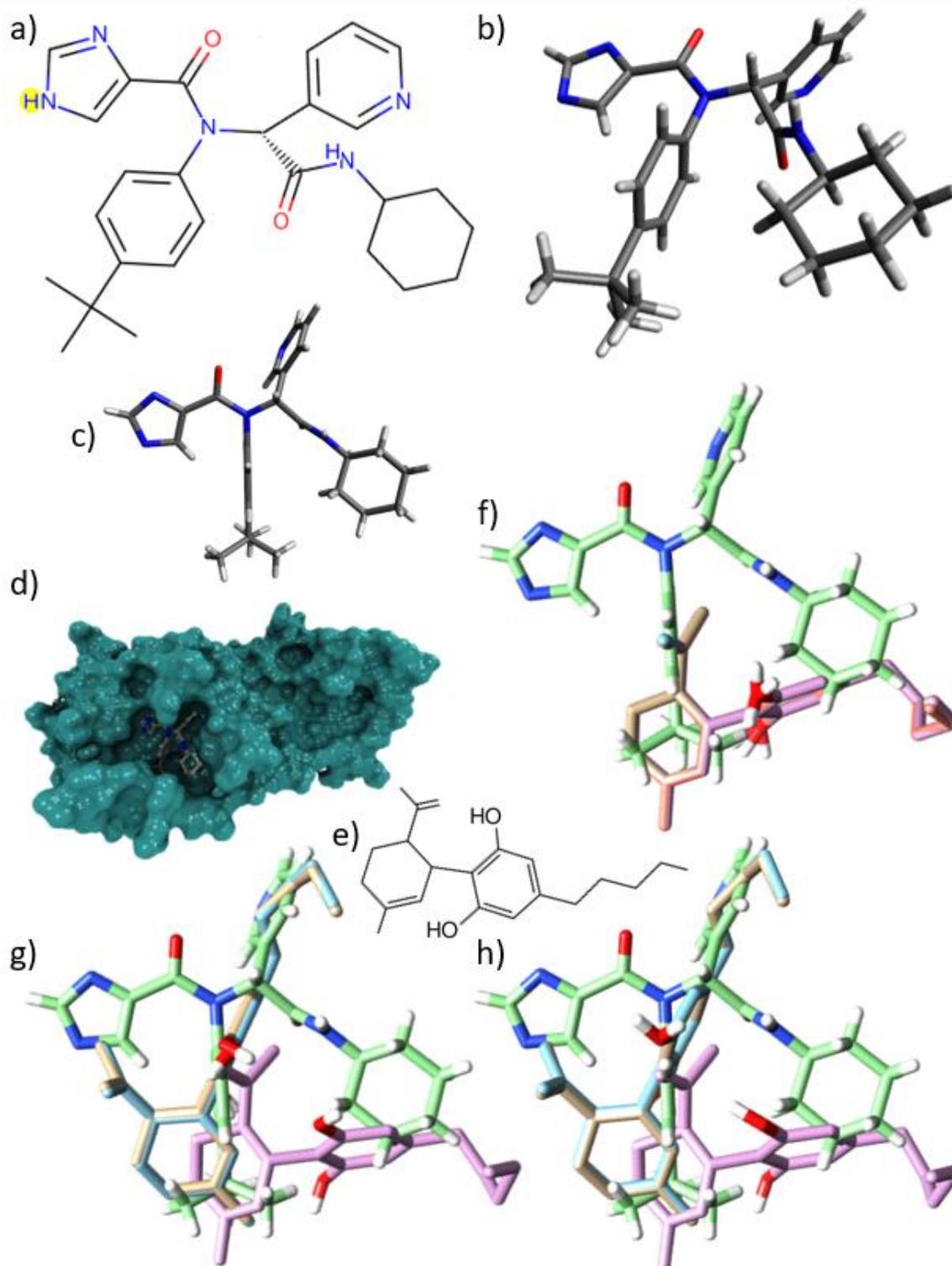


Figura 39 – Verificações *in silico* da inibição da protease M^{PRO} da COVID-19: a) estrutura bidimensional do ligante X77; b) estrutura tridimensional específica do *docking* do X77 com a M^{PRO}; c) estrutura tridimensional específica do X77 em ângulo que torna a imagem “menos sobrecarregada” para comparação; d) superfície da M^{PRO} com *docking* do X77; e) estrutura bidimensional do CBD; f) comparação do *docking* da estrutura tridimensional do CBD “C5-C25” com a do X77; g) comparação do *docking* da estrutura tridimensional do CBD “C26-C46” com a do X77; h) comparação do *docking* da estrutura tridimensional do CBD “PubChem” com a do X77.

escore menor que esse valor. Entretanto, os escores de todas as conformações analisadas do canabidiol foram piores (de maior valor). Isso significa que é menos provável que ocorra a interação entre o CBD e a M^{PRO}. A [Figura 39a](#) representa a estrutura molecular bidimensional do X77. Observe que a um hidrogênio que não está representado na [Figura 39b](#), estrutura tridimensional desse ligante. Isso ocorre porque o site (rcsb.org) descreve que essa é uma representação baseada nas “*instance coordinates*”, ou seja, como ele interage especificamente com a M^{PRO}. A [Figura 39c](#) representa essa estrutura tridimensional específica em um ângulo que torna a imagem “menos sobrecarregada” para comparações. A [Figura 39d](#) representa a superfície da M^{PRO} com *docking* do X77. A [Figura 39e](#) representa a estrutura molecular bidimensional do CBD. As duas conformações do CBD descritas por [Mayr et al.\(2017\)](#) apresentaram diferentes escores. A [Figura 39f](#) demonstra uma maior reprodutibilidade das réplicas para a conformação equivalente a que os autores identificaram como C5 a C25, gerando o melhor escore relativo (-6,40 ± 0,00 kcal/mol). Já a outra conformação do CBD descrita pelos autores (C26 a C46) apresentou escore (-6,15 ± 0,10 kcal/mol, [Figura 39g](#)) similar ao da conformação descrita pela PubChem (-6,20 ± 0,12 kcal/mol, [Figura 39h](#)). Ambas apresentaram baixa reprodutibilidade das réplicas, demonstrando estruturas do CBD que não se sobrepuseram.

5.3 Produção e caracterização do carvão ativado

5.3.1 Composição do precursor

O espectro FTIR da estopa de fibra de cânhamo é mostrado na [Figura 40](#). É possível observar, como demonstrado por [Garside e Wyeth \(2003\)](#), que esta técnica não é a mais adequada para diferenciar o material de outras fibras naturais lignocelulósicas como o sisal, rami, juta, linho e algodão, por exemplo. Entretanto, é possível observar algumas das mesmas bandas espectrais descritas por [Dai e Fan \(2010\)](#) e [Oza et al. \(2014\)](#) que estão relacionadas a grupos funcionais da hemicelulose em 2918 e 2850 cm⁻¹, a lignina em 1736 e 1622 cm⁻¹, e a celulose em 665, 608, 559 e 519 cm⁻¹ ([Yang et al., 2007](#)).

A [Tabela 13](#) mostra a composição centesimal deste precursor em umidade, outros voláteis, cinzas e carbono fixo. O teor de umidade foi próximo ao valor de 8,2 % descrito por [Pejic et al. \(2008\)](#). [Branca et al. \(2017\)](#) descreveram um teor de cinzas de 0,6 %, ou seja, próximo ao encontrado, mas um teor de carbono fixo significativamente menor (4,9 %). [Marrot et al. \(2021\)](#) demonstraram, em um estudo recente, que variações significativas têm sido observadas em análises da composição centesimal de matérias-primas derivadas do caule de cânhamo.

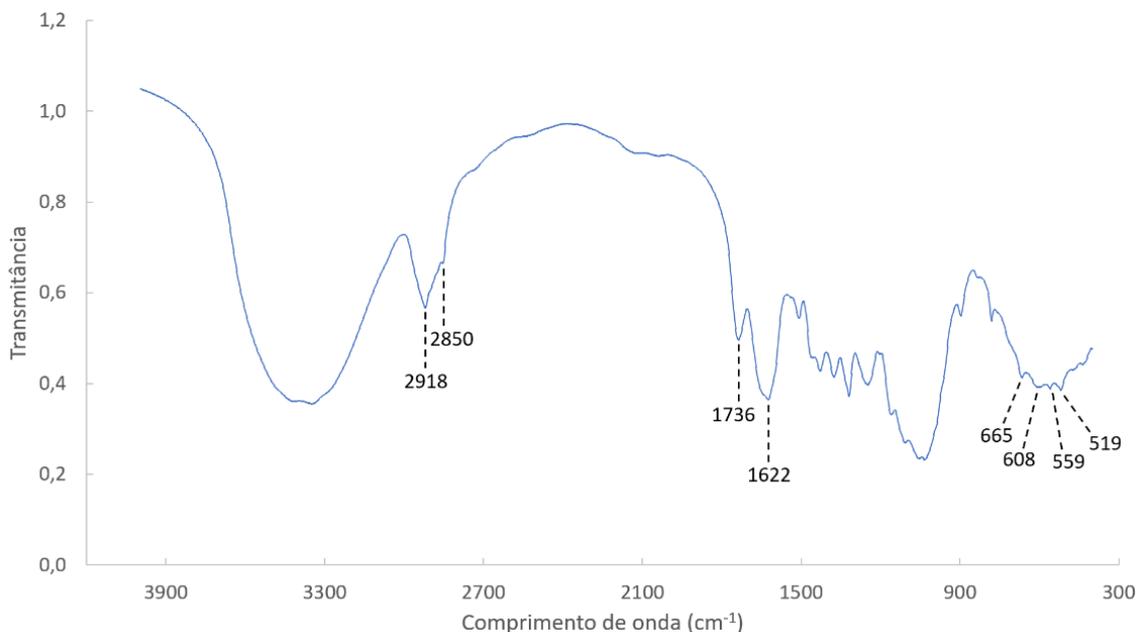


Figura 40 – Espectro FTIR da estopa adquirida.

Tabela 13 – Composição centesimal das estopas de fibras de cânhamo.

Ensaio	Umidade (%)	Outros voláteis (%)	Cinzas (%)	*Carbono fixo (%)
1	8,70	71,76	0,88	18,66
2	8,79	71,78	0,95	18,48
Média	8,74 ± 0,06	71,77 ± 0,01	0,91 ± 0,05	18,57 ± 0,13

*O teor de carbono fixo foi obtido por diferença.

A [Figura 41](#) mostra os resultados da composição de metais pesados. O ajuste para a curva de calibração foi linear para o cádmio e quadrático para os outros metais, como sugerido na literatura ([Varian, 1989](#)). As curvas apresentaram bons coeficientes de correlação (R^2). Os resultados mostram que as curvas do cádmio, cobre e níquel poderiam ser otimizadas para a obtenção de uma composição mais precisa da amostra. A composição de cobre em ppm foi equivalente a descrita por [Angelova et al. \(2004\)](#) ($1,7 \cong 1,8$) e a de zinco e cádmio um pouco superior ($35,0 > 18,9$ e $1,4 > 0,4$, respectivamente). A composição de níquel foi um pouco inferior a descrita por [Linger et al. \(2002\)](#) ($1,3 < 6,9$). A composição de ferro foi a maior dentre os metais analisados, assim como descrito por [Khan et al. \(2008\)](#) ($Fe > Zn > Cu > Ni$). A massa da amostra perdida durante a calcinação (“abertura”) foi de $98,57 \pm 0,01$ %.

5.3.2 Adsorventes produzidos

A suplementação prévia ao cultivo de fungos nas estopas de fibras de cânhamo não foi necessária para o bom desenvolvimento do organismo, como mostra a [Figura 42](#). Visualmente, não foram nítidas mudanças significativas no desenvolvimento do micélio. Com isso, definiu-se que o cultivo fosse conduzido com estopas sem suplementação.

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexado em carreadores

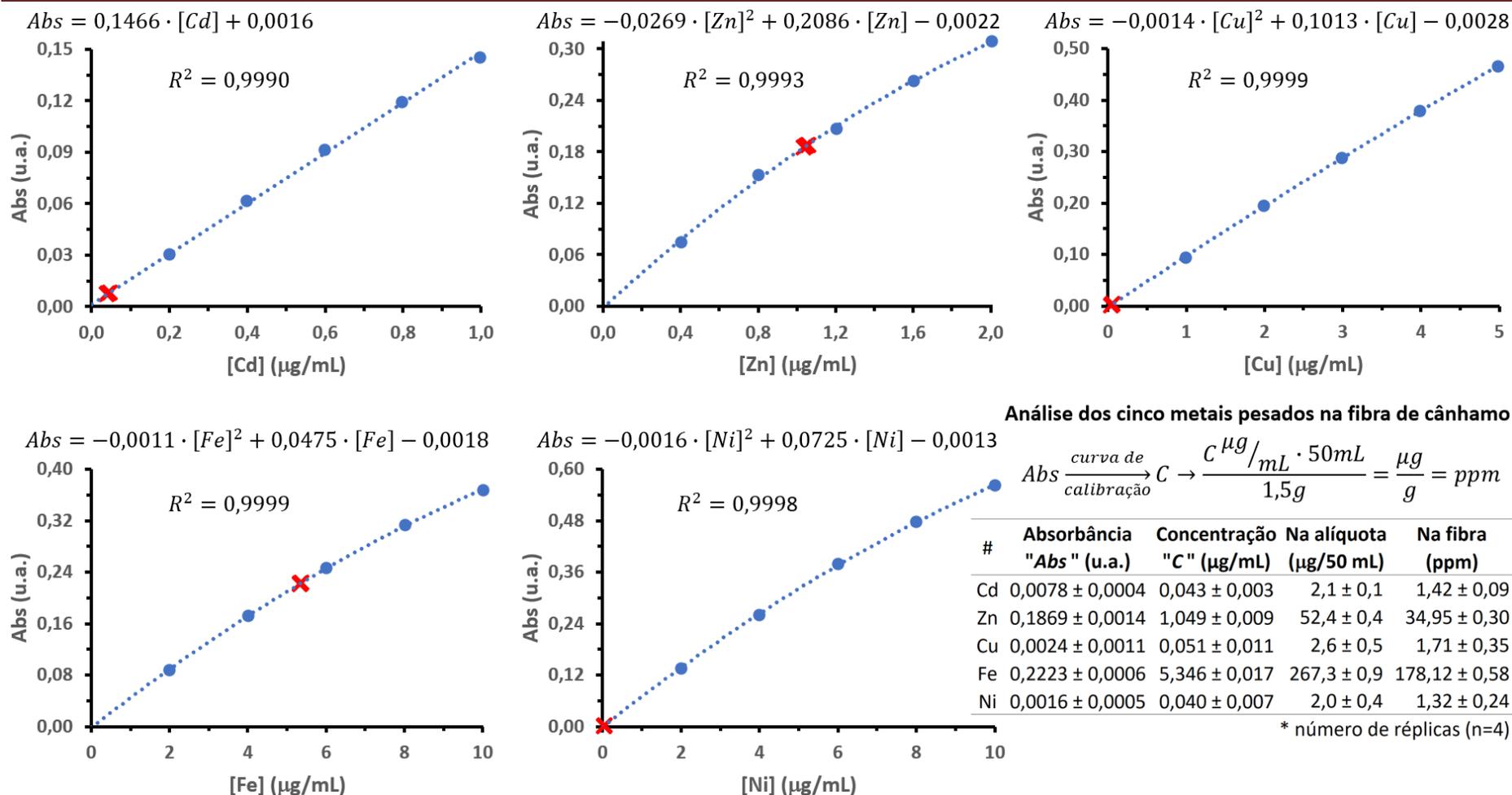


Figura 41 – Composição de metais pesados da estopa.

Os adsorventes produzidos são mostrados na Tabela 14, sendo evidenciados as condições experimentais utilizadas e os resultados obtidos. A produção de carvões com e sem pré-tratamento foi inicialmente avaliada. Não foi observado um aumento significativo da porosidade do carvão obtido com a estopa pré-tratada, como descrito por Wang et al. (2019). Desta forma, optou-se na produção do CA a partir do pre-

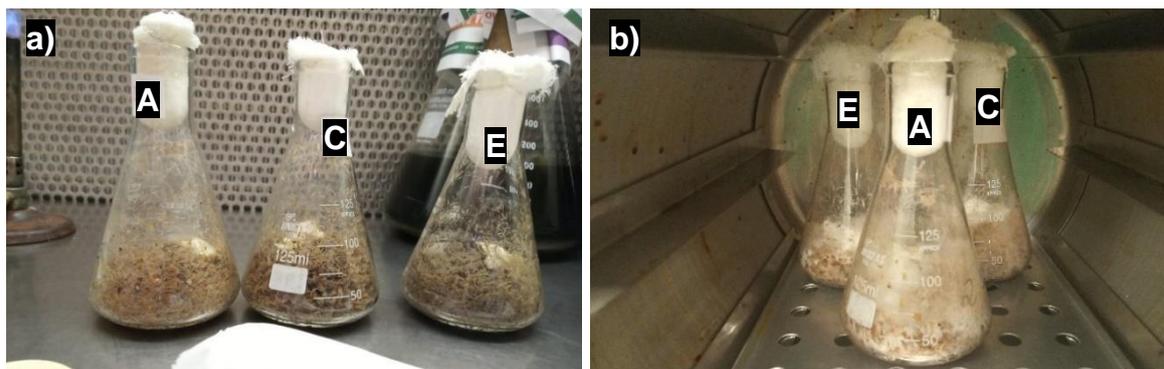


Figura 42 – Análise prévia do cultivo de *Pleurotus* nas estopas (E: sem suplementação; A: suplementadas com farelo de arroz; C: suplementadas com Czapek): a) após a adição de aproximadamente 1 g de “spawns”; b) após desenvolvimento do micélio por 12 dias.

cursor sem pré-tratamento e conseqüentemente sem autoclavagem. A pirólise com parâmetros otimizados utilizando uma maior quantidade de estopa (aumento de escala) gerou um aumento no rendimento de CA produzido, porém apresentando uma menor área superficial. O CA produzido nas bateladas 4 e 5 foi o utilizado nos experimentos posteriores.

A Figura 43 mostra a isoterma de fissorção do CA escolhido. O gráfico demonstra que não há grandes variações do volume de N_2 adsorvido com o aumento gradativo da pressão relativa do sistema. Isso é uma característica da isoterma tipo I, ou seja, de um adsorvente microporoso. Entretanto, nota-se também a presença de uma pequena histerese durante a dessorção do nitrogênio que caracteriza uma isoterma tipo IV (com mesoporosos). Essas características corroboram com os dados apresentados previamente na Tabela 14.

Tabela 14 – Adsorventes produzidos.

Condições e resultados	Adsorventes				
	1	2	3	4	5
Esterilização (120 °C, 20 min)	sim	sim	não	não	não
Pré-tratamento com <i>Pleurotus</i>	não	sim	não	não	não
Massa inicial do precursor (g)	15,29	15,30	15,33	25,02	60,09 ± 0,01
Carbonização (N_2 ; 500 °C; 2h)	sim	sim	sim	sim	sim
Ativação (CO_2 ; 850 °C; 1,5h)	não	não	sim	sim	sim
Rendimento mássico (%)	16,55	22,42	7,12	10,53	14,97 ± 0,46
Área do adsorvente, A_{BET} (m^2/g)	101,42	118,44	787,29		474,05
Área de microporos (m^2/g)	93,13	116,41	646,31		425,37
Área de superfície externa (m^2/g)	8,29	2,03	140,99		48,68
Volume total de poros (cm^3/g)	0,063	0,053	0,517		0,309
Volume de microporos (cm^3/g)	0,052	0,056	0,298		0,231
Tamanho médio dos poros (nm)	2,50	1,79	2,63		1,31

A distribuição do tamanho de poros é apresentada na [Figura 44](#). O gráfico mostra (em vermelho) que 75 % dos poros do CA produzido são microporos, assim como descrito previamente na [Tabela 14](#). Além disso, a predominância dos microporos também é evidenciada porque os maiores picos da distribuição de tamanho (em azul) estão na faixa menor < 2 nm. De acordo com [Thongpat et al. \(2021\)](#), carvões ativados microporosos são apropriados para adsorver moléculas gasosas.

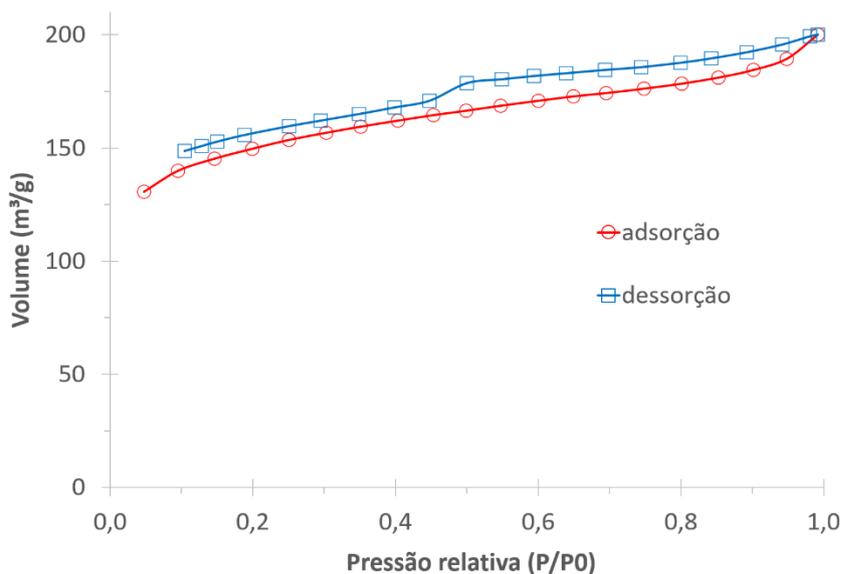


Figura 43 – Fissorção de nitrogênio (isoterma de adsorção e dessorção de N_2 a 77 K).

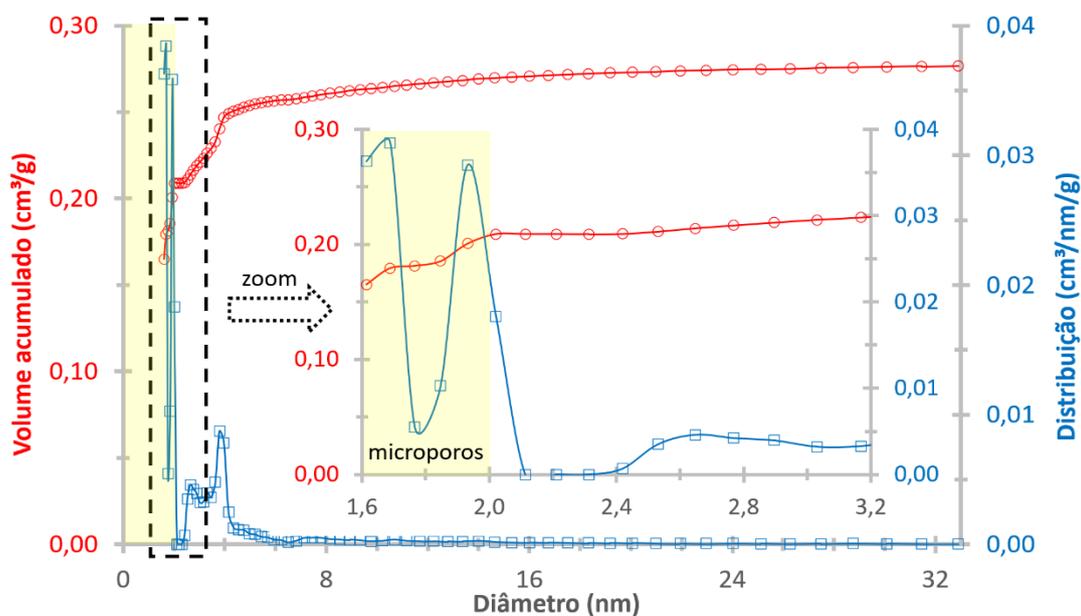
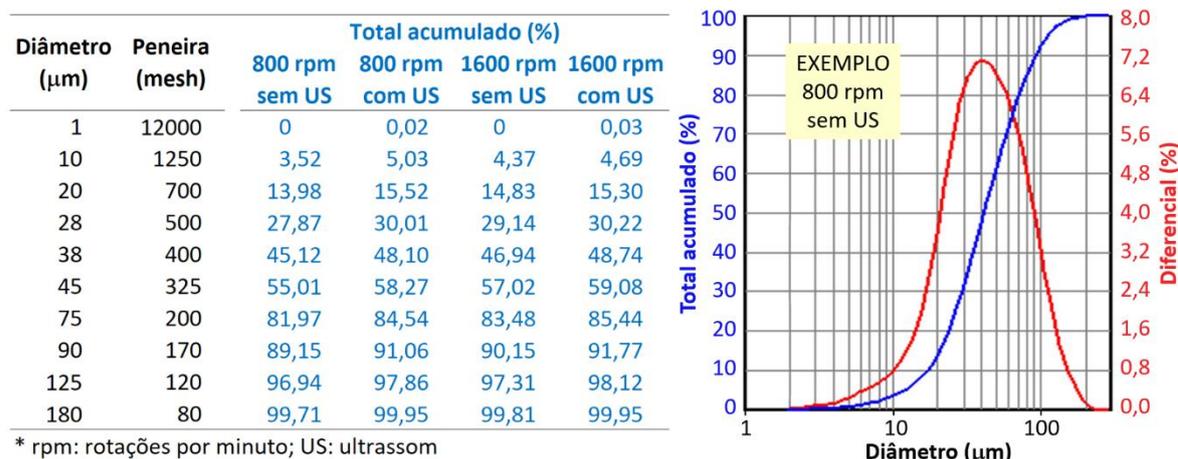


Figura 44 – Caracterização dos poros do carvão ativado produzido e utilizado como carreador.

A [Figura 45](#) mostra os resultados utilizando o *Analisador de Tamanho de Partícula à Laser* sob diferentes condições. As análises com ultrassom proporcionaram resultados com menores tamanhos de partículas, quando conduzidas sob uma mesma condição de agitação do meio (800 ou 1600 rpm). Isso pode estar relacionado a uma melhor condição de análise ou a uma quebra das partículas durante o procedimento. A comparação direta das velocidades de agitação não forneceu um padrão nos resultados.



* rpm: rotações por minuto; US: ultrassom

Figura 45 – Tamanho das partículas do CA produzido sob diferentes parâmetros.

As partículas com 38 µm, diretamente relacionadas com a peneira de 400 mesh, representam, de fato, a maior parte do CA produzido. Entretanto, apesar todas as partículas terem passado previamente por uma peneira desse tamanho, apenas 45,12 a 48,74 % delas apresentaram o tamanho esperado, ou seja, $\leq 38 \mu\text{m}$. Os resultados demonstraram que na verdade o tamanho das partículas varia entre 2 e 200 µm.

5.4 Complexação dos fármacos aos carreadores

A [Figura 46](#) mostra os testes iniciais de complexação do IBU em CA. A concentração inicial de 690 mg IBU/mL, descrita por [Miryala et al. \(2017\)](#), não se mostrou adequada para o experimento, já que não se obteve uma solução homogênea mesmo após horas de agitação em banho ultrassônico. A solução de 500 mg IBU/mL permitiu a obtenção de uma solução homogênea, porém houve a formação de cristais sobre o CA durante o processo de filtração com e sem vácuo. Os cristais de IBU puro na superfície do complexo IBU*CA não seriam adequados porque demonstram uma não homogeneidade do sólido. A utilização de uma solução de 250 mg IBU/mL e filtração com vácuo não produziu um complexo com cristais na superfície, por isso foi a escolhida para os experimentos com o IBU. Os experimentos com o CBD foram conduzidos utilizando uma concentração de 100 mg/mL, devido a limitação do ativo disponível e solubilidade máxima de 35 mg/mL descrita por [Cayman \(2015\)](#). A utilização dessa concentração e filtração a vácuo também não produziu complexos com cristais na superfície.



Figura 46 – Testes iniciais de complexação (adsorção) do IBU ao CA.

5.4.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 47 mostra espectros FTIR dos ativos puros e complexados. As bandas 3517, 3071 e 1377 cm^{-1} , como demonstrado em estudo prévio (Grijó e Motta Lima, 2019), foram identificadas como capazes de diferenciar o CBD do Δ^9 -THC. Os gráficos demonstram que houve complexação de ambos os ativos em ambos os carreadores, mas que essa técnica não é a mais adequada para se fazer esse tipo de confirmação.

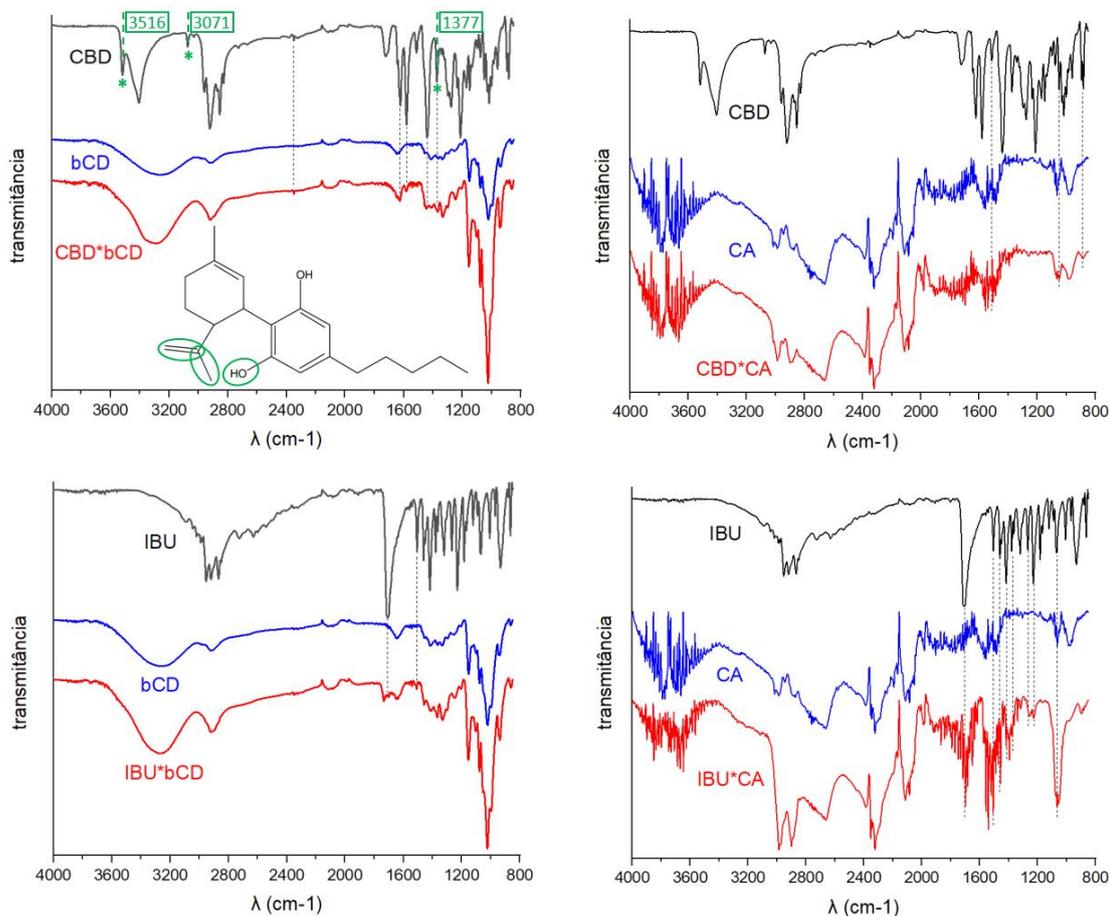


Figura 47 – Espectros FTIR dos ativos puros e complexados.

5.4.2 Difratometria de Raio-X (DRX)

A [Figura 48](#) mostra o espectro DRX obtido a partir da amostra de CBD. Observa-se picos de cristalinidade com os valores de 2θ (2θ): 9,82; 10,32; 16,70; 17,48 19,66; 20,66; 22,22 e 22,78. Estes também foram descritos por [Dickman e Levin \(2017\)](#) e [Vlad et al. \(2021\)](#), porém com alguns outros picos de intensidade minimamente significativa.

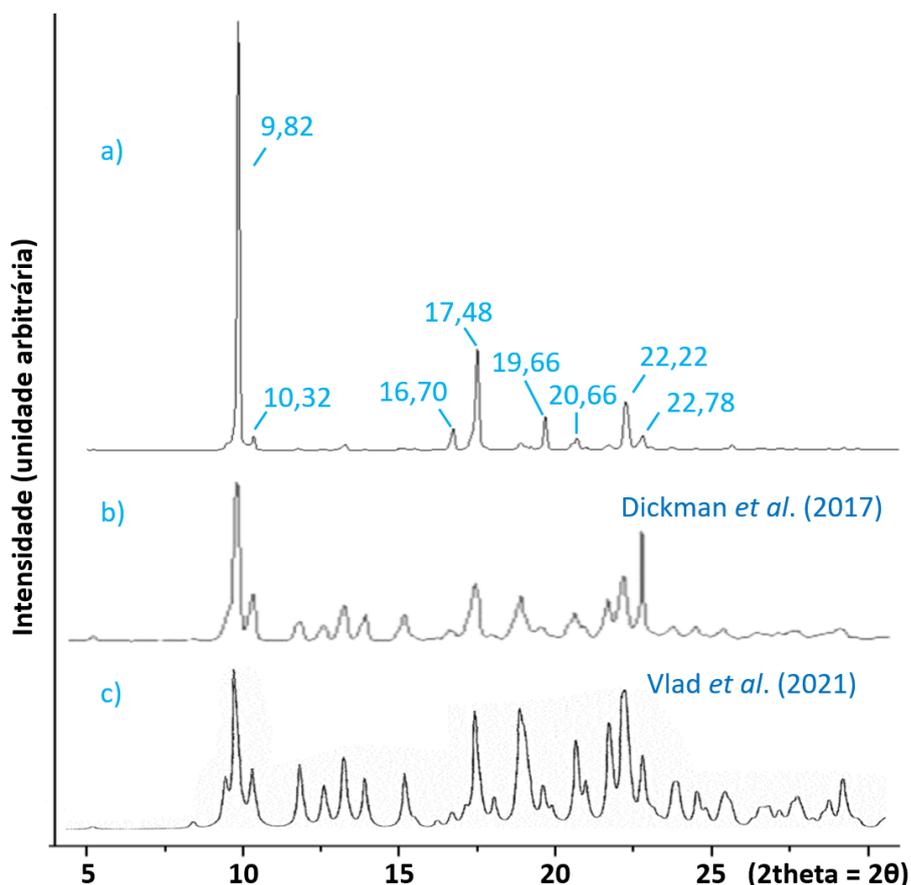


Figura 48 – Espectro DRX do CBD: a) obtido neste trabalho; b) descrito por [Dickman et al. \(2017\)](#); c) descrito por [Vlad et al. \(2021\)](#).

A cristalinidade dos fármacos puros (CBD e IBU) não é observada em ambos os complexos (com CA e com bCD), como mostra [Figura 49](#), confirmando a eficiência dos procedimentos de complexação. Além disso, é possível notar que os principais picos de cristalinidade do IBU, ou seja, os valores de 2θ (2θ) iguais a 6,14; 16,82; 18,82; 19,12; 20,24 e 22,44, são diferentes dos do CBD, demonstrando que a técnica possibilita distinguir os dois fármacos puros.

5.4.3 Análises termogravimétricas

As análises térmicas TG, DTG e DSC são mostradas na [Figura 50](#). As análises demonstram que a temperatura de fusão do CBD e do IBU é, respectivamente, 73,11 e 80,33 °C, e a entalpia de fusão -27 e -24 kJ/mol, ou seja, trata-se de processos endotér-

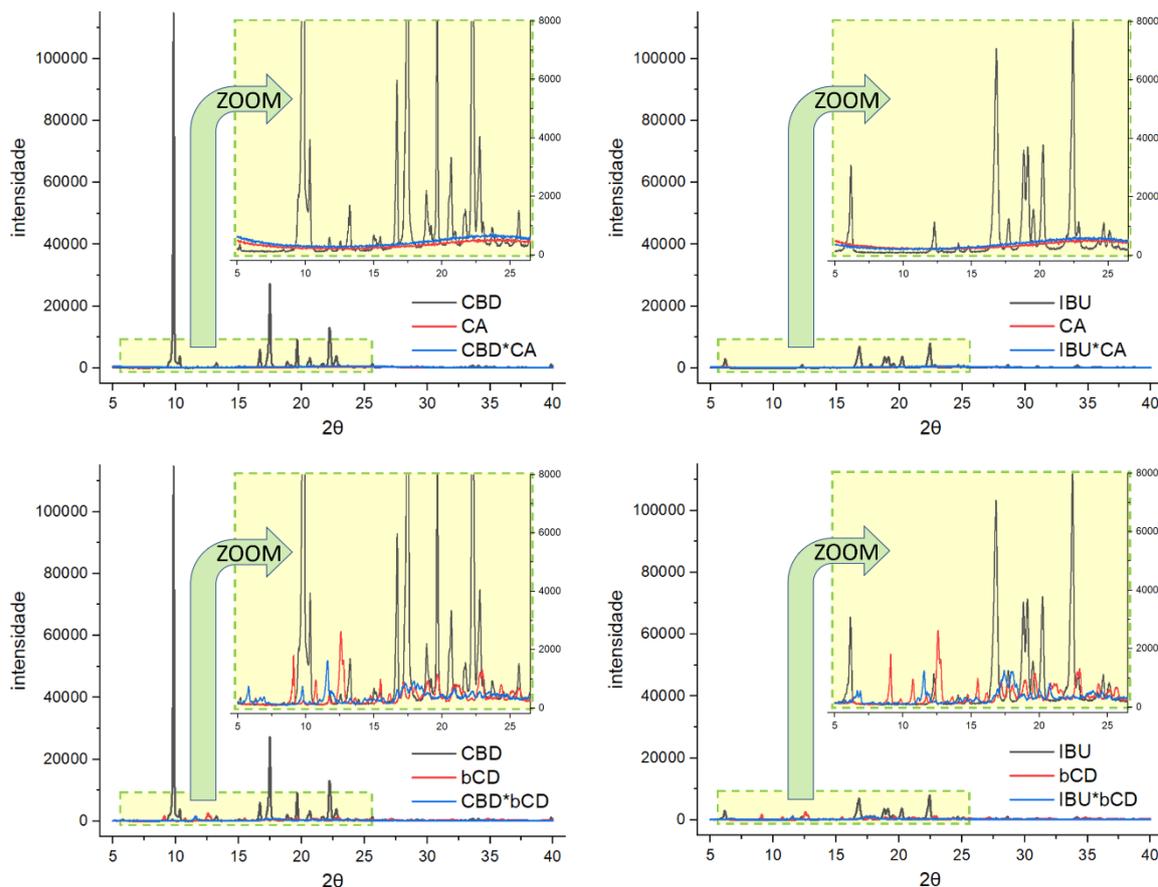


Figura 49 – Comparação entre os espectros DRX de fármacos puros e complexados.

rmicos. O gráfico TG da bCD pura demonstra uma perda de massa com temperaturas inferiores a 100 °C, atribuída à evaporação da água superficial comumente presente no carreador (Abarca et al., 2016). A ausência da fusão dos complexos com bCD comprova que houve melhora na estabilidade térmica. As características da faixa de degradação da bCD pura e de seus complexos são diferentes, comprovando a complexação. O CA não apresenta picos de mudança de fase ou de degradação abrupta, como esperado. Não se observa picos de fusão dos complexos com o CA, também comprovando o aumento de estabilidade térmica.

Os resultados obtidos a partir de análises com o fusiômetro são mostrados na Figura 51. A temperatura de fusão obtida para o CBD foi de 70,5 °C e do IBU 79,7 °C. Ambas foram ligeiramente inferiores às obtidas com o DSC. Na verdade, a literatura descreve valores entre 64 e 67 °C para a temperatura de fusão de CBD (Dickman e Levin, 2017).

5.4.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção via luz Ultravioleta (HPLC/UV)

A Figura 52 mostra os resultados da curva de calibração do IBU utilizando o CBD

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexo em carreadores

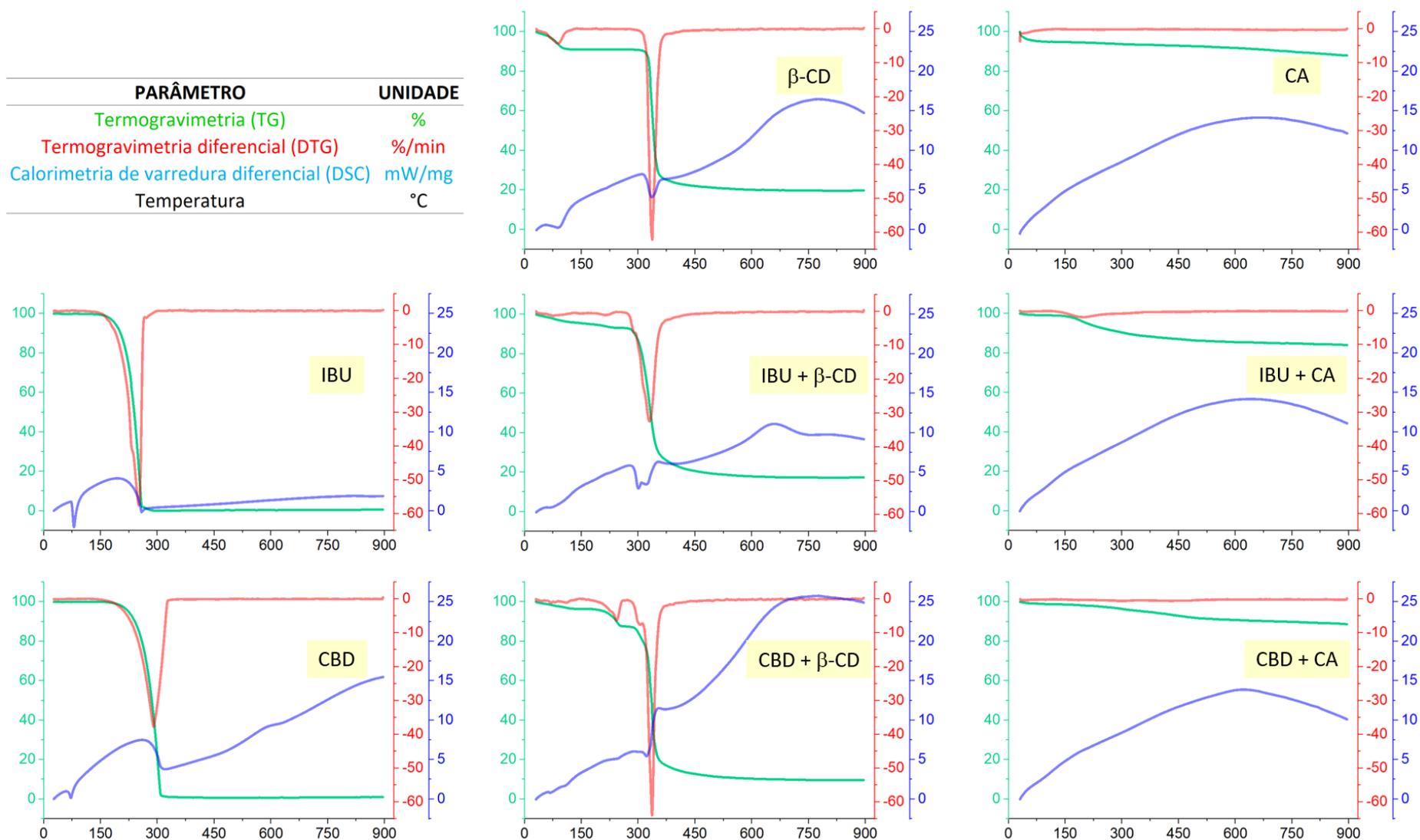


Figura 50 – Análises térmicas dos fármacos e carreadores puros, bem como de seus complexos.

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexo em carreadores

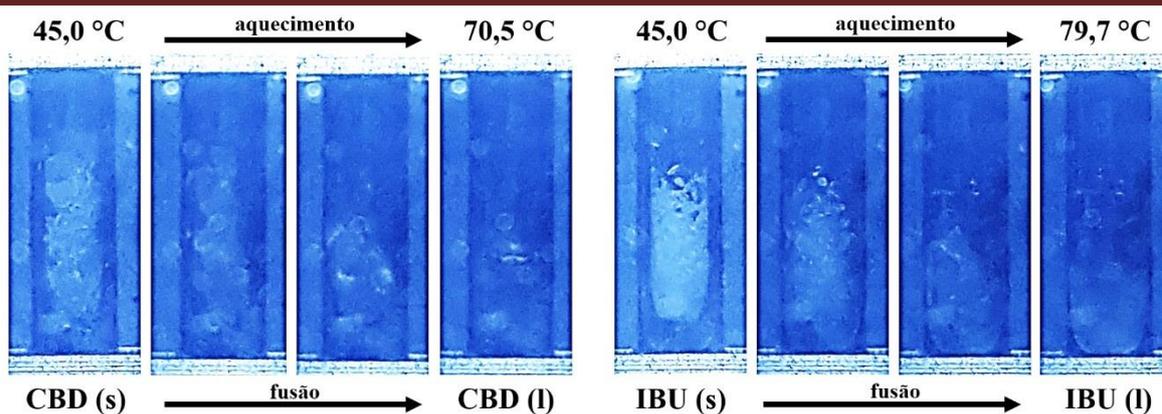


Figura 51 – Resultados obtidos nas análises utilizando o fusiômetro.

como padrão interno. Observou-se durante o manuseio do equipamento que durante o procedimento automatizado havia um pequeno vazamento na seringa e a formação de microbolhas. Isso inviabilizaria a análise de resultados sem a utilização de um padrão interno. É possível observar grandes variações de áreas para amostras de mesma composição. Entretanto, nestes casos, a razão entre as áreas do IBU e do CBD são reprodutíveis. Foi possível obter um bom coeficiente de correlação, $R^2 = 0,9974$.

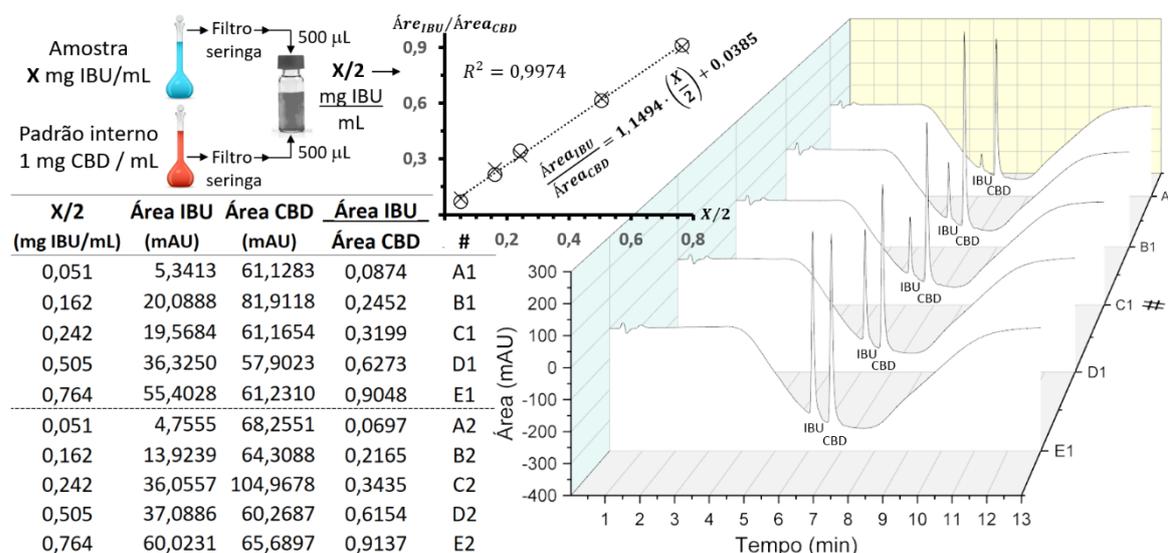


Figura 52 – Curva de calibração do IBU utilizando o CBD como padrão interno.

A Figura 53 mostra os resultados da curva de calibração do CBD utilizando o IBU como padrão interno. As observações descritas anteriormente foram recorrentes. Foi possível obter um bom coeficiente de correlação, $R^2 = 0,9937$.

A Figura 54 mostra os resultados de complexação. Foi possível observar que houve uma complexação maior do CBD em bCD (22,90 % m/m) do que do IBU em bCD (11,33 % m/m). A comparação direta da complexação dos dois fármacos em CA não pode ser feita porque a forma de preparo foi distinta.

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexo em carreadores

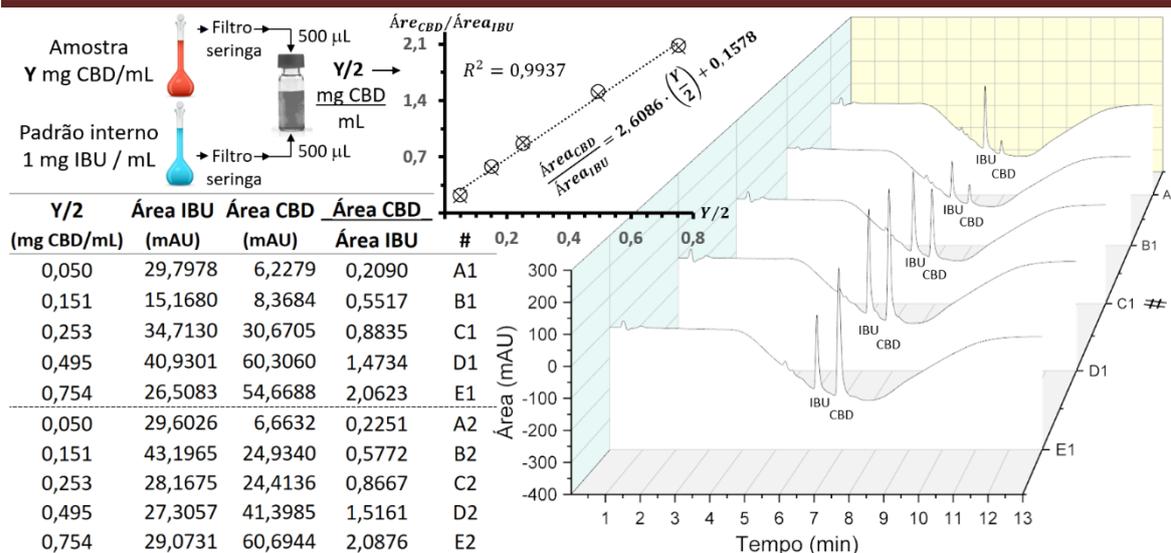


Figura 53 – Curva de calibração do CBD utilizando o IBU como padrão interno.

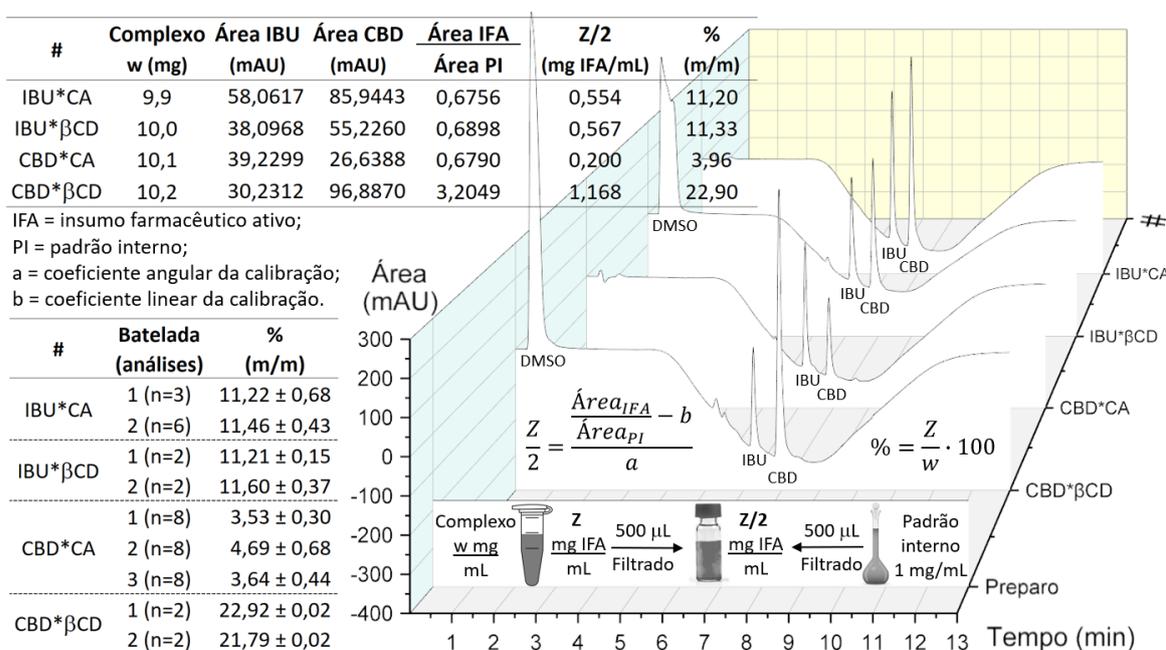


Figura 54 – Resultados das quantificações dos diferentes fármacos em diferentes complexação.

5.5 Atividade antitumoral *in vitro*

A Figura 55 mostra os resultados obtidos a partir das análises de atividade antitumoral *in vitro*. O CBD não sintético puro apresentou um IC_{50} próximo ao descrito por Lv et al. (2019), que conduziu experimentos similares utilizando alguns parâmetros diferentes. Isso comprova que o bioativo possui uma atividade antitumoral significativa quando comparado ao fármaco de referência (cisplatina), tendo ainda a importante característica de ausência de efeitos colaterais significativos já reconhecida.

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexado em carreadores

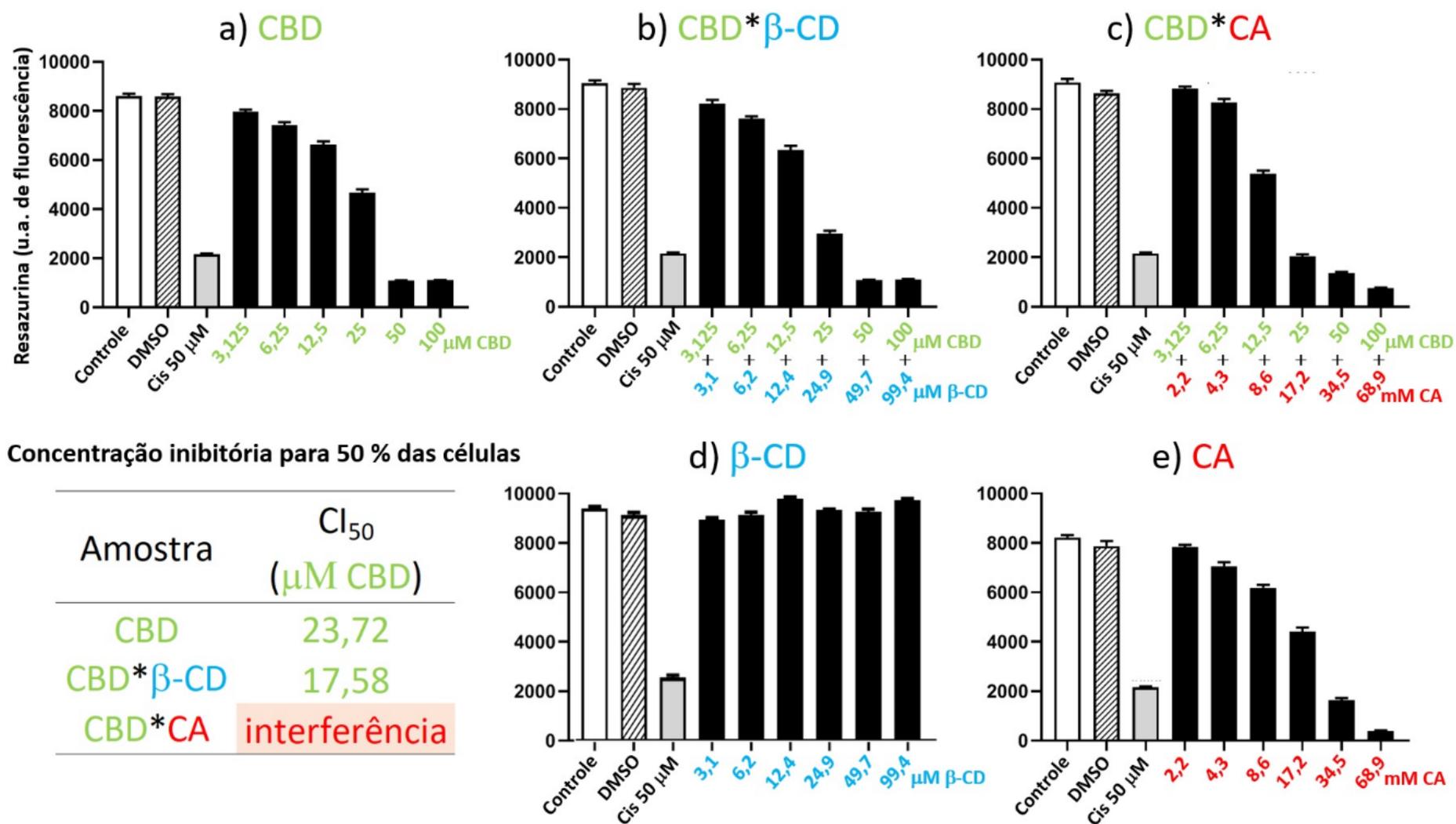


Figura 55 – Resultados das análises de citotoxicidade *in vitro*, evidenciando a concentração de CBD necessária para inibir 50 % das células (CI₅₀): a) CBD; b) CBD*β-CD; c) CBD*CA; d) β-CD; e) CA.

Ao analisar uma quantidade do complexo CBD*bCD com uma carga ativa equivalente foi obtido uma menor IC₅₀. Além disso, foi possível comprovar que a bCD pura não é citotóxica. A análise do complexo CBD*CA parecia, a princípio, promissora, já que apresentou um IC₅₀ ainda menor. Entretanto, vimos que o CA puro foi citotóxico. Acreditamos que isso pode ter sido ocasionado devido ao atrito físico do CA com as paredes celulares, ou seja, o rompimento das mesmas. Infelizmente a parceria científica não concedeu a oportunidade de verificar a citotoxicidade do CA puro frente a uma célula normal. O esperado é que ocorra o mesmo, ou seja, o CA também seja citotóxico às células normais. Apesar disso, é recomendado que essas análises sejam feitas em um estudo futuro e que se realize uma adaptação no método para análises *in vitro* caso seja confirmado a expectativa de resultados. Caso ocorra o improvável, demonstrará que o CA puro tem uma capacidade antitumoral.

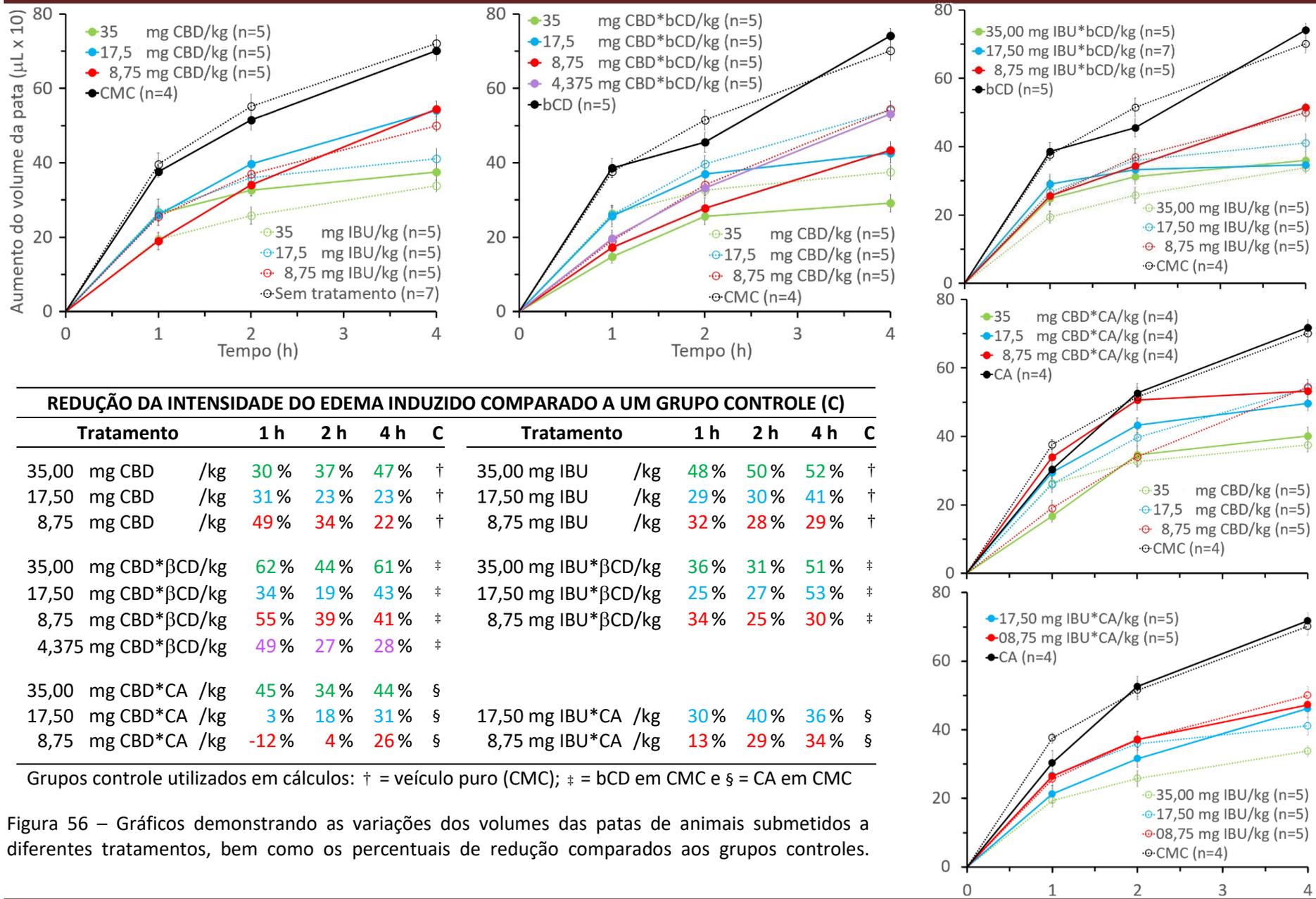
5.6 Atividade anti-inflamatória aguda *in vivo*

Os resultados obtidos do procedimento experimental 7125020919 e 4591170220 foram aprovados pelo CEUA/JEM em 10/março/2022 e 09/dezembro/2021, respectivamente. A comparação gráfica da variação do volume do edema após tratamentos com os fármacos puros e complexados e o percentual relativo de inibição dos mesmos em relação a grupos controles são mostradas [Figura 56](#).

Observa-se, como mostrado previamente por [Wisniewski-Rebecca et al. \(2015\)](#), que as maiores doses de IBU puro proporcionaram melhores atividades anti-inflamatórias devido a menores edema nas patas dos animais. As análises com o CBD puro demonstraram que a dose com menor concentração, ou seja, 8,75 mg/kg, apresentou melhor resultado após 1h da indução do edema. Entretanto, após 4h já se observou a tendência da maior eficiência ser obtida com o aumento da concentração da dose. Resultados semelhantes foram observados por [Costa et al. \(2004\)](#), apesar da metodologia não ser exatamente igual (aplicação de doses ao longo de vários dias). A dose de 7,5 mg/kg descrita por estes autores foi por um período mais eficiente que a dose de 20,0 mg/kg e a dose de 10 mg/kg foi durante todo o experimento mais eficiente que a dose de 20,0 mg/kg. Essa característica pode estar relacionada ao fato da solubilidade aquosa do CBD (\cong 12,6 g/L) ser menor do que a do IBU (\cong 21,0 g/L). É importante ressaltar que o CBD é um bioativo com ausência de efeitos colaterais significativos ([WHO, 2018](#)) e que suas efetivas doses foram menores do que a de outros bioativos promissores descritos na literatura ([De Almeida et al., 2018](#)).

As três principais doses de CBD complexado em bCD (8,75; 17,5 e 35 mg /kg) proporcionaram maiores atividades anti-inflamatórias quando comparadas com as res-

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexo em carreadores



REDUÇÃO DA INTENSIDADE DO EDEMA INDUZIDO COMPARADO A UM GRUPO CONTROLE (C)

Treatamento	1 h	2 h	4 h	C	Treatamento	1 h	2 h	4 h	C
35,00 mg CBD /kg	30 %	37 %	47 %	†	35,00 mg IBU /kg	48 %	50 %	52 %	†
17,50 mg CBD /kg	31 %	23 %	23 %	†	17,50 mg IBU /kg	29 %	30 %	41 %	†
8,75 mg CBD /kg	49 %	34 %	22 %	†	8,75 mg IBU /kg	32 %	28 %	29 %	†
35,00 mg CBD*βCD/kg	62 %	44 %	61 %	‡	35,00 mg IBU*βCD/kg	36 %	31 %	51 %	‡
17,50 mg CBD*βCD/kg	34 %	19 %	43 %	‡	17,50 mg IBU*βCD/kg	25 %	27 %	53 %	‡
8,75 mg CBD*βCD/kg	55 %	39 %	41 %	‡	8,75 mg IBU*βCD/kg	34 %	25 %	30 %	‡
4,375 mg CBD*βCD/kg	49 %	27 %	28 %	‡					
35,00 mg CBD*CA /kg	45 %	34 %	44 %	§	17,50 mg IBU*CA /kg	30 %	40 %	36 %	§
17,50 mg CBD*CA /kg	3 %	18 %	31 %	§	8,75 mg IBU*CA /kg	13 %	29 %	34 %	§
8,75 mg CBD*CA /kg	-12 %	4 %	26 %	§					

Grupos controle utilizados em cálculos: † = veículo puro (CMC); ‡ = bCD em CMC e § = CA em CMC

Figura 56 – Gráficos demonstrando as variações dos volumes das patas de animais submetidos a diferentes tratamentos, bem como os percentuais de redução comparados aos grupos controles.

pectivas doses puras. Além disso, a menor dose desse complexo (4,375 mg/kg) foi equivalente ao tratamento com o dobro da dose pura. Por outro lado, o complexo IBU*bCD só se apresentou vantajoso com na dose intermediária (17,5 mg/kg). Os tratamentos com as diferentes doses dos dois complexos com CA não proporcionaram alteração significativa nos resultados da atividade anti-inflamatória após 4h da indução do edema, ou seja, não houve aumento da biodisponibilidade dos ativos nestas análises (*in vivo*).

A [Figura 57](#) mostra os resultados da atividade da mieloperoxidase (MPO). Apesar de alguns resultados em doses únicas terem demonstrado efeito antiedematogênico promissor não houve efeito inibitório sobre a atividade da MPO (marcador indireto do recrutamento celular). Logo, observa-se que para uma análise adequada desse parâmetro é necessário avaliar modelos de inflamação crônica e os mediadores anti-inflamatórios envolvidos nas diferentes fases da resposta.

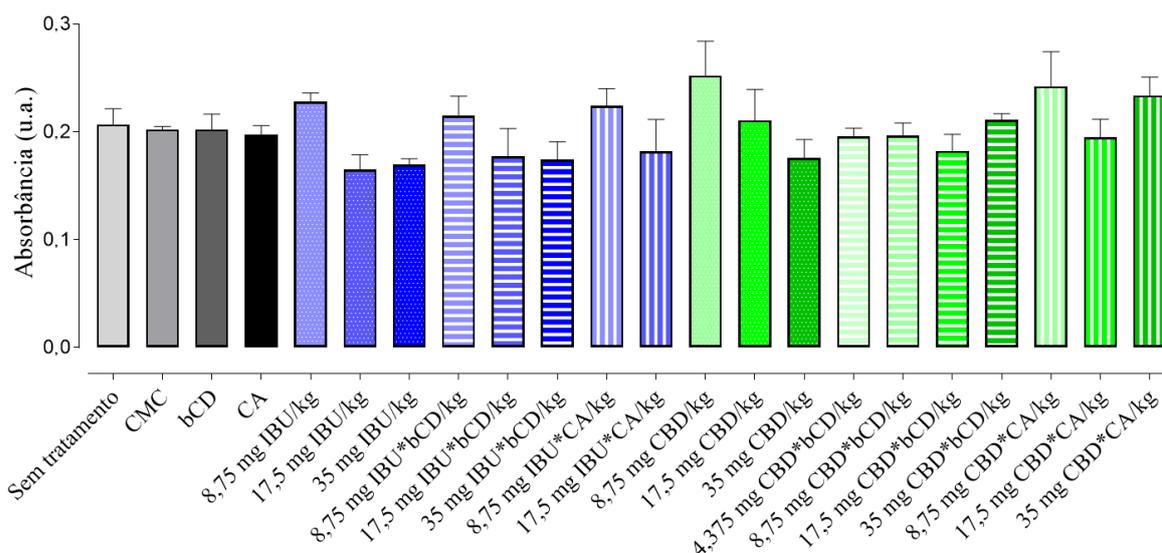


Figura 57 – Resultados da atividade da mieloperoxidase após 4 h da indução do edema.

6 Conclusão

O aperfeiçoamento proposto para o teste rápido colorimétrico de Duquenois-Levine foi satisfatório. A metodologia de preparação de um extrato etanólico da amostra junto com uma baixa concentração de vanilina pura, sem aldeído, foi adequado para identificar amostras derivadas de *Cannabis*. A retirada da amostra sólida do meio reacional durante a análise se mostrou necessária para a não detecção de falsos positivos. O procedimento não parece ser complexo para uma versão comercial do produto, até porque a vanilina e o etanol não representam riscos consideráveis ao analista.

A utilização de um padrão de referência durante a análise de *Cromatografia em Camada Delgada* (CCD) foi adequada para minimizar desvios nos fatores de retenção inerentes à técnica. A correlação desses fatores com os valores estimados de momento de dipolo e coeficiente de partição octanol-água mostrou-se adequada, podendo ser uma metodologia aliada a estudos para otimizar a composição da mistura de solventes para identificação simultânea de canabinóides ácidos e neutros. Além disso, demonstrou ser necessário cautela durante a análise devido a identificação simultânea de clorofilas.

A utilização isolada de qualquer uma das técnicas RMN-1D analisadas, ou seja, ^1H , ^{13}C ou DEPT 135, se mostrou suficiente para diferenciar os isômeros CBD e Δ^9 -THC, assim como a técnica de FTIR. As técnicas RMN-2D se mostraram úteis para elucidar detalhes da estrutura tridimensional do CBD natural. A diferença espacial dos enantiômeros desse bioativo vem sendo identificada como um parâmetro importante que não deve ser negligenciado. Além do diferente potencial de atividade biológica (WHO, 2018) estes enantiômeros podem apresentar características específicas que impactarão as condições industriais que deverão ser aplicados para otimizar seus processos de obtenção e purificação (Grijó et al., 2021).

O método *in silico* utilizado para avaliar a inibição competitiva de ligantes a principal protease (M^{pro}) do coronavírus 2019 (COVID-19) sugere que o CBD não é um inibidor competitivo a esta, apesar de seu possível potencial na erradicação da expressão do RNA viral ter sido descrita por Nguyen et al. (2021). Dessa forma, estudos mais aprofundados visando avaliar a atividade de diferentes canabinóides na prevenção da COVID-19 tendem a ser conduzidos. Van Breemen et al. (2022), por exemplo, demonstraram, recentemente, que outra importante protease do vírus, denominada spike, pode ser inibida pelo ácido canabigerólico (CBGA) e o CBDA.

A fibra de cânhamo utilizada demonstrou ter características físico-químicas semelhantes as descritas em literatura, mas observou-se que este produto vendido no Brasil pode não ser derivado da *Cannabis*. Além disso, foram evidenciados detalhes em registros históricos que sugerem que o “cultivo da planta para a produção de fibras no século XIX e XX”, citado por diversos autores, pode também estar relacionado a outro gênero vegetal. Apesar disso, é de comum visão para muitos, que o país terá um potencial de crescimento econômico significativo caso decida regulamentar o cultivo dessa cultura que possui baixo potencial psicotrópico e que vem se tornando uma importante matéria-prima para medicamentos e fibras em diversas nações. As suas sementes ricas em ácidos graxos poli-insaturados também devem ser destacadas, como demonstrado em estudos prévios (Grijó, 2015; Grijó, Melo, 2016; Grijó et al., 2017; Grijó, 2018; Grijó et al., 2019a).

O cultivo de fungos nas fibras demonstrou se desenvolver de forma significativa sem a necessidade de suplementação. Entretanto, não foi observado um aumento significativo da área superficial do carvão sob o planejamento experimental simplificado analisado. A avaliação mais detalhada desses parâmetros é recomendada para um estudo futuro. As análises de caracterização do carvão ativado produzido demonstraram que o adsorvente era predominantemente microporoso, justificando a baixa capacidade de complexar os fármacos analisados. Além disso, observou-se que a metodologia de complexação requer uma grande quantidade do ativo puro devido à alta solubilidade destes em solventes como o etanol. Este fator agrega um alto custo indesejável ao processo.

A complexação dos dois fármacos em bCD foi eficiente, sendo a capacidade de complexação do CBD neste carreador maior que a do IBU. Isso pode estar relacionado a menor solubilidade deste em água e em etanol, ou seja, demonstra que esta metodologia de complexação tem excelente potencial para fármacos extremamente insolúveis em água. Dentre as técnicas qualitativas analisadas o DRX foi o que melhor demonstrou resultados que pudessem comprovar a eficiência da complexação. A técnica quantitativa via HPLC se demonstrou necessária já que testes prévios utilizando um espectrofotômetro não foram capazes de determinar o real teor dos fármacos nos carreadores.

As análises de atividade antitumoral *in vitro* demonstraram que o CBD é um eficiente bioativo quando comparado ao fármaco de referência, e que seu complexo em bCD apresenta resultados ainda mais promissores. Por outro lado, não foi possível analisar o complexo em CA devido à limitação do método. Nas análises de atividade anti-inflamatória *in vivo* o CBD puro apresentou resultados eficientes em doses similares a do

IBU, fármaco de referência. Além disso, nestas análises, houve um aumento significativo da biodisponibilidade do CBD quando complexado em bCD nas três doses testadas (8,75; 17,5 e 35 mg/kg). Isso demonstra que esse carreador é promissor para o desenvolvimento de medicações orais com o canabinóide. As análises *in vivo* com complexos em CA demonstraram que este carreador alternativo gera resultados indiferentes em relação ao aumento de biodisponibilidade do ativo.

7 Referências

O sétimo capítulo apresenta as referências científicas adotadas nesta *Tese*.

Abarca RL, Rodríguez FJ, Guarda A, Galotto MJ, Bruna JE. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing an essential oil component. *Food Chemistry*, 2016; 196: 968-975. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.023

Abdel-Aziz SM, Aeron A, Kahil TA. Health benefits and possible risks of herbal medicine. In: N Garg, SM Abdel-Aziz and A Aeron, editors. *Microbes in food and health*. Springer, Cham; 2016. ISBN 978-3-319-25277-3.

Adamson AW, Gast AP. *Physical chemistry of surfaces*. New York: Wiley; 1997. ISBN 0471148733 9780471148739.

Ali AF, Atwa SM, El-Giar EM. 6 - development of magnetic nanoparticles for fluoride and organic matter removal from drinking water. In: AM Grumezescu, editor. *Water purification*. Academic Press; 2017. p. 209-262. ISBN 978-0-12-804300-4.

Ali N, Hadi F, Ali M. Growth stage and molybdenum treatment affect cadmium accumulation, antioxidant defence and chlorophyll contents in cannabis sativa plant. *Chemosphere*, 2019; 236: 124360. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.124360

Alkurdi SSA, Herath I, Bundschuh J, Al-Juboori RA, Vithanage M, Mohan D. Biochar versus bone char for a sustainable inorganic arsenic mitigation in water: What needs to be done in future research? *Environment International*, 2019; 127: 52-69. doi: 10.1016/j.envint.2019.03.012

Amaducci S, Scordia D, Liu FH, Zhang Q, Guo H, Testa G, et al. Key cultivation techniques for hemp in europe and china. *Industrial Crops and Products*, 2015; 68: 2-16. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.06.041

Amidon GL, Lennernas H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification - the correlation of in-vitro drug product dissolution and in-vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*, 1995; 12(3): 413-420. doi: 10.1023/a:1016212804288

Andrade AM, Carvalho LM. Potencialidades energéticas de oito espécies florestais do estado do rio de janeiro. *FLORAM*, 1998; 5: 24-42.

Angelova V, Ivanova R, Delibaltova V, Ivanov K. Bio-accumulation and distribution of heavy metals in fibre crops (flax, cotton and hemp). *Industrial Crops and Products*, 2004; 19(3): 197-205. doi: 10.1016/j.indcrop.2003.10.001

ANVISA. Portaria/svs nº 344 (12 de maio). Agência nacional de vigilância sanitária. 1998.

ANVISA. Resolução da diretoria colegiada (rdc) nº 099 (30 de dezembro). Agência nacional de vigilância sanitária. 2008.

ANVISA. Resolução da diretoria colegiada (rdc) nº 033 (08 de junho). Agência nacional de vigilância sanitária. 2009.

ANVISA. Resolução da diretoria colegiada (rdc) nº 003 (26 de janeiro). Agência nacional de vigilância sanitária. 2015a.

ANVISA. Resolução da diretoria colegiada (rdc) nº 017 (06 de maio). Agência nacional de vigilância sanitária. 2015b.

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexado em carreadores

ANVISA. Resolução da diretoria colegiada (rdc) nº 087 (28 de junho). Agência nacional de vigilância sanitária. 2016.

ANVISA. Resolução da diretoria colegiada (rdc) nº 156 (05 de maio). Agência nacional de vigilância sanitária. 2017a.

ANVISA. Resolução-re nº 101 (13 de janeiro). Agência nacional de vigilância sanitária. 2017b.

ANVISA. Consulta pública nº 655 (13 de junho). Agência nacional de vigilância sanitária. 2019a.

ANVISA. Resolução da diretoria colegiada (rdc) nº 298 (12 de agosto). Agência nacional de vigilância sanitária. 2019b.

ANVISA. Resolução da diretoria colegiada (rdc) nº 327 (09 de dezembro). Agência nacional de vigilância sanitária. 2019c.

ANVISA. Autorização sanitária de produtos de cannabis (perguntas & respostas) [Internet]. 2020a [cited 2021/11/10]. Available from: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/medicamentos/fitoterapicos-dinamizados-e-especificos/informes/especificos/perguntas-e-respostas-produtos-de-cannabis-1a-edicao.pdf>

ANVISA. Resolução da diretoria colegiada (rdc) nº 367 (06 de abril). Agência nacional de vigilância sanitária. 2020b.

ANVISA. Resolução da diretoria colegiada (rdc) nº 368 (07 de abril). Agência nacional de vigilância sanitária. 2020c.

ANVISA. Resolução-re nº 1.186 (20 de abril). Agência nacional de vigilância sanitária. 2020d.

ANVISA. Agência esclarece sobre decisões judiciais relacionadas a cannabis medicinal [Internet]. 2021a [cited 2021/11/10]. Available from: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/agencia-esclarece-sobre-decisoes-judiciais-relacionadas-a-cannabis-medicinal>

ANVISA. Resolução-re nº 1.525 (14 de abril). Agência nacional de vigilância sanitária. 2021b.

ANVISA. Resolução-re nº 1.937 (13 de maio). Agência nacional de vigilância sanitária. 2021c.

ANVISA. Resolução-re nº 4.067 (27 de outubro). Agência nacional de vigilância sanitária. 2021d.

ANVISA. Resolução-re nº 4.134 (29 de outubro). Agência nacional de vigilância sanitária. 2021e.

ANVISA. Resolução-re nº 4.475 (30 de novembro). Agência nacional de vigilância sanitária. 2021f.

ANVISA. Resolução-re nº 4.673 (15 de dezembro). Agência nacional de vigilância sanitária. 2021g.

ANVISA. Resolução-re nº 778 (19 de fevereiro). Agência nacional de vigilância sanitária. 2021h.

ANVISA. Resolução-re nº 17 (5 de janeiro). Agência nacional de vigilância sanitária. 2022a.

ANVISA. Resolução-re nº 136 (17 de janeiro). Agência nacional de vigilância sanitária. 2022b.

Aquino IC. A representação do imigrante alemão no romance sul-rio-grandense : "A divina pastora", "Frida meyer", "Um rio imita o reno", "O tempo e o vento" E "A ferro e fogo". Tese de doutorado (literaturas brasileira, portuguesa e luso-africanas). Universidade federal do rio grande do sul (porto alegre/rs, brasil). 2007.

Arrunategui LB, Silva-Barcellos NM, Bellavinha KR, Ev LD, de Souza J. Biopharmaceutics classification system: Importance and inclusion in biowaiver guidance. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015; 51(1): 143-154. doi: 10.1590/s1984-82502015000100015

ASTM. Standard terminology relating to textiles (d123 - 00b). American society for testing and materials. 2003.

ASTM. Standard test method for chemical analysis of wood charcoal. Designation: D1762 – 84 (reapproved). American society for testing and materials. 2007.

Attard TM, Bainier C, Reinaud M, Lanot A, McQueen-Mason SJ, Hunt AJ. Utilisation of supercritical fluids for the effective extraction of waxes and cannabidiol (cbd) from hemp wastes. *Industrial Crops and Products*, 2018; 112: 38-46. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.10.045

Averink J. Global water footprint of industrial hemp textile. Master thesis (chemical engineering). Universidade estadual de maringá (enschede, netherlands). 2015.

Bailey K. The value of the duquenois test for cannabis—a survey. *Journal of Forensic Sciences*, 1979; 24(4): 817-841. doi: 10.1520/JFS10911J

Bambi G, Rossi G, Barbari M. Comparison between different types of bedding materials for horses. *Agronomy Research*, 2018; 16(3): 646-655. doi: 10.15159/ar.18.124

Bani D, Masini E, Bello MG, Bigazzi M, Sacchi TB. Relaxin protects against myocardial injury caused by ischemia and reperfusion in rat heart. *The American journal of pathology*, 1998; 152(5): 1367-1376.

Bansal RC, Goyal M. Activated carbon adsorption. Boca Raton: Taylor et Francis; 2005.

Basta AH, Fierro V, Ei-Saied H, Celzard A. 2-steps koh activation of rice straw: An efficient method for preparing high-performance activated carbons. *Bioresource Technology*, 2009; 100(17): 3941-3947. doi: 10.1016/j.biortech.2009.02.028

Bento CM. Bicentenário da instalação da real feitoria do linho cânhamo no rincão do canguçu em canguçu-rs *Revista do Instituto Histórico e Geográfico Brasileiro*, 1983; 340(Julho - Setembro):

Berge ND, Ro KS, Mao JD, Flora JRV, Chappell MA, Bae SY. Hydrothermal carbonization of municipal waste streams. *Environmental Science & Technology*, 2011; 45(13): 5696-5703. doi: 10.1021/es2004528

Berger J. The world's major fibre crops : Their cultivation and manuring. Zürich; 1969.

Bernardi E, Donini LP, Minotto E, Nascimento JSd. Utilização de diferentes substratos para a produção de inóculo de *pleurotus ostreatoroseus* sing. *Revista Ciência Agrônômica*, 2007; 38(1): 84-89 (ISSN: 1806-6690).

Bertoli A, Tozzi S, Pistelli L, Angelini LG. Fibre hemp inflorescences: From crop-residues to essential oil production. *Industrial Crops and Products*, 2010; 32(3): 329-337. doi: 10.1016/j.indcrop.2010.05.012

Biermann CJ. Essentials of pulping and papermaking. London: Academic Press; 1993. ISBN 012097360X 9780120973606.

Bizerra A, Silva V. Sistemas de liberação controlada: Mecanismos e aplicações. *Revista Saúde e Meio Ambiente*, 2016; 3(2): 1-12. ISSN: 2447/8822.

Bjerre AB, Schmidt AS. Development of chemical and biological processes for production of bioethanol: Optimization of the wet oxidation process and characterization of products. Technical university of denmark (roskilde, denmark). Riso national laboratory. Issn: 0106-2840 [Internet]. 1997 [cited 2021/11/11]. Available from: <https://www.osti.gov/etdeweb/servlets/purl/452977>

Blackie WJ. New color reactions for cannabis sativa resin. Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition, 1941; 13(2): 96-97. doi: 10.1021/i560090a016

Blade SF, Gaudiel RG, Kerr N. Low-thc hemp research in the black and brown soil zones of alberta, canada. P. 306–310. In: J. Janick (ed.), perspectives on new crops and new uses. Ashs press, alexandria, va. [Internet]. 1999 [cited 2021/11/09]. Available from: <https://hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1999/v4-306.html>

Bloom JM. Papermaking: The historical diffusion of an ancient technique. In: H Jöns, P Meusbürger and M Heffernan, editors. Mobilities of knowledge. Knowledge and space, vol 10. Springer, Cham; 2017.

BMI. Miscellaneous notes. Bulletin of Miscellaneous Information (Royal Botanic Gardens, Kew), 1907; 1907(8): 325-338.

Bocsa I, Karus M. The cultivation of hemp : Botany, varieties, cultivation and harvesting/ ivan bocsa, michael karus. Sebastopol: Hemptech; 1998. ISBN 1886874034 9781886874039.

Borges RS, Batista J, Viana RB, Baetas AC, Orestes E, Andrade MA, et al. Understanding the molecular aspects of tetrahydrocannabinol and cannabidiol as antioxidants. Molecules, 2013; 18(10): doi: 10.3390/molecules181012663

Boyce SS. Hemp : A practical treatise on the culture of hemp for seed and fiber with a sketch of the history and nature of the hemp plant. New York: Orange Judd Co.; 1912.

Branca C, Di Blasi C, Galgano A. Experimental analysis about the exploitation of industrial hemp (cannabis sativa) in pyrolysis. Fuel Processing Technology, 2017; 162: 20-29. doi: 10.1016/j.fuproc.2017.03.028

Brasil. Decreto-lei no 891 (25 de novembro). Presidência da república. Lei de fiscalização de entorpecentes. 1938.

Brasil. Decreto nº 54.216 (27/agosto). Câmara dos deputados [Internet]. 1964 [cited 2021/11/09]. Available from: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1960-1969/decreto-54216-27-agosto-1964-394342-publicacaooriginal-1-pe.html>

Brasil. Lei no 11,343 (23 de agosto). Presidência da república. Sistema nacional de políticas públicas sobre drogas - sisnad. 2006.

Brennan JK, Bandoz TJ, Thomson KT, Gubbins KE. Water in porous carbons. Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects, 2001; 187: 539-568. doi: 10.1016/s0927-7757(01)00644-6

Brenneisen R, Kessler T. Psychotropic-drugs .5. Variability cannabinoid content of swiss-grown cannabis with respect to genetic and ecological factors. Pharmaceutica Acta Helvetiae, 1987; 62(5-6): 134-139.

Breuer A, Haj CG, Fogaça MV, Gomes FV, Silva NR, Pedrazzi JF, et al. Fluorinated cannabidiol derivatives: Enhancement of activity in mice models predictive of anxiolytic, antidepressant and antipsychotic effects. PLOS ONE, 2016; 11(7): e0158779. doi: 10.1371/journal.pone.0158779

Brighenti V, Pellati F, Steinbach M, Maran D, Benvenuti S. Development of a new extraction technique and hplc method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type cannabis sativa l. (hemp). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2017; 143: 228-236. doi: 10.1016/j.jpba.2017.05.049

Brown DT. *Cannabis : The genus cannabis*. Amsterdam: Harwood Academic; 1998. ISBN 9057022915 9789057022913.

Bruckle I. Bleaching in paper production versus conservation. *Restaurator-International Journal for the Preservation of Library and Archival Material*, 2009; 30(4): 280-293. doi: 10.1515/rest.016

Bruni N, Della Pepa C, Oliaro-Bosso S, Pessione E, Gastaldi D, Dosio F. Cannabinoid delivery systems for pain and inflammation treatment. *Molecules*, 2018; 23(10): doi: 10.3390/molecules23102478

Bruschi ML, Woodhead P. *Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems*. Amsterdam [etc.]: Elsevier/Woodhead Publishing; 2017. ISBN 9780081000922 0081000928 9780081001127 0081001126.

Butrica JL. The medical use of cannabis among the greeks and romans. *Journal of Cannabis Therapeutics*, 2002; 2(2): 51-70. doi: 10.1300/J175v02n02_04

Butt H-J, Graf K, Kappl M. *Physics and chemistry of interfaces*. Weinheim: Wiley-VCH; 2013. ISBN 9783527412167 3527412166.

Canadá. *Controlled drugs and substances act: Industrial hemp regulations (sor/98-156)*. Pc 1998-352. 1998.

Cardenas PA, Kratz JM, Hernandez A, Costa GM, Ospina LF, Baena Y, et al. In vitro intestinal permeability studies, pharmacokinetics and tissue distribution of 6-methylcoumarin after oral and intraperitoneal administration in wistar rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017; 53(1): doi: 10.1590/s2175-97902017000116081

Carlini EA, Cunha JM. Hypnotic and anti-epileptic effects of cannabidiol. *Journal of Clinical Pharmacology*, 1981; 21(8-9): S417-S427. doi: 10.1002/j.1552-4604.1981.tb02622.x

Carvalho MC. *Farmácia vendia coca e maconha até 1938*. Folha de s.Paulo (24/dezembro, domingo) [Internet]. 1995 [cited 2021/11/09]. Available from: <https://www1.folha.uol.com.br/fsp/1995/12/24/brasil/22.html>

Cascini F, Farcomeni A, Migliorini D, Baldassarri L, Boschi I, Martello S, et al. Highly predictive genetic markers distinguish drug-type from fiber-type cannabis sativa l. *Plants*, 2019; 8(11): doi: 10.3390/plants8110496

Casiraghi A, Musazzi UM, Centin G, Franzè S, Minghetti P. Topical administration of cannabidiol: Influence of vehicle-related aspects on skin permeation process. *Pharmaceuticals*, 2020; 13(11): doi: 10.3390/ph13110337

Cayman. Cannabidiol (item nº 90081). product information [Internet]. 2015 [cited 2021.11.11]. Available from: <https://www.caymanchem.com/pdfs/90081.pdf>

Cayman. (±)-ibuprofen (item nº 70280). product information [Internet]. 2017 [cited 2021.11.11]. Available from: <https://www.caymanchem.com/pdfs/70280.pdf>

Ceyhan AA, Sahin O, Saka C, Yalcin A. A novel thermal process for activated carbon production from the vetch biomass with air at low temperature by two-stage procedure. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2013; 104: 170-175. doi: 10.1016/j.jaap.2013.08.007

CGT. Overview: Hemp traintm & cbd production efficiencies. Canadian greenfield technologies corp [Internet]. 2019 [cited 2019/09/20]. Available from: <https://www.hort.purdue.edu/newcrop/ncnu02/v5-284.html>

Chandra S, Lata H, ElSohly MA. *Cannabis sativa L. - botany and biotechnology*. Doi: 10.1007/978-3-319-54564-6. Switzerland: Springer Nature; 2017. ISBN 978-3-319-54563-9.

Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*; Vol 9, No 6, 2017:

Cherney JH, Small E. Industrial hemp in north america: Production, politics and potential. *Agronomy*, 2016; 6(4): doi: 10.3390/agronomy6040058

Chiang HL, Huang CP, Chiang PC. The surface characteristics of activated carbon as affected by ozone and alkaline treatment. *Chemosphere*, 2002; 47(3): 257-265. doi: 10.1016/s0045-6535(01)00215-6

Choi YH, Hazekamp A, Peltenburg-Looman AMG, Frédéric M, Erkelens C, Lefeber AWM, et al. Nmr assignments of the major cannabinoids and cannabiflavonoids isolated from flowers of *cannabis sativa*. *Phytochemical Analysis*, 2004; 15(6): 345-354. doi: <https://doi.org/10.1002/pca.787>

Chowdhury ZZ, Abd Hamid SB, Das R, Hasan MR, Zain SM, Khalid K, et al. Preparation of carbonaceous adsorbents from lignocellulosic biomass and their use in removal of contaminants from aqueous solution. *Bioresources*, 2013; 8(4): 6523-6555.

Clarke R. Confusion over cannabis in yunnan. *Journal of International Hemp Association*, 1999; 6(2): 77-80.

Clarke R, Merlin M. *Cannabis: Evolution and ethnobotany*. London: University of California Press; 2013. ISBN 978-0520292482.

CNAE. Classificação nacional de atividades econômicas 2.0. Comissão nacional de classificação (concla). Instituto brasileiro de geografia e estatística (ibge) [Internet]. 2010 [cited 2019/09/20]. Available from: <https://concla.ibge.gov.br/busca-online-cnae.html>

CNAE-Domiciliar. Classificação nacional de atividades econômicas domiciliar. Comissão nacional de classificação (concla). Instituto brasileiro de geografia e estatística (ibge). [Internet]. 2010 [cited 2019/09/20]. Available from: <http://www.cnaedom.ibge.gov.br/index.asp>

CONITEC. Canabidiol 200mg/ml para o tratamento de crianças e adolescentes com epilepsia refratária a medicamentos antiepilépticos. comissão nacional de incorporação de tecnologia no sus [Internet]. 2021 [cited 2021/11/10]. Available from: http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2021/20210222_Relatorio_Canabidiol_Epilepsia_refrataria_CP_12.pdf

Conrad C. *Hemp : Lifeline to the future. The unexpected answer for our environmental and economic recovery*. Los Angeles, Calif.: Creative Xpressions; 1995.

Corroon J, Kight R. Regulatory status of cannabidiol in the united states: A perspective. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 2018; 3(1): 190-194. doi: 10.1089/can.2018.0030

Costa B, Colleoni M, Conti S, Parolaro D, Franke C, Trovato AE, et al. Oral anti-inflammatory activity of cannabidiol, a non-psychoactive constituent of cannabis, in acute carrageenan-induced inflammation in the rat paw. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2004; 369(3): 294-299. doi: 10.1007/s00210-004-0871-3

Cunha JM, Carlini EA, Pereira AE, Ramos OL, Pimentel C, Gagliardi R, et al. Chronic administration of cannabidiol to healthy-volunteers and epileptic patients. *Pharmacology*, 1980; 21(3): 175-185. doi: 10.1159/000137430

Curran H, Wiffen P, Nutt D, Scholten W. Cannabis and cannabis resin - pre-review report: A document prepared for the world health organization expert committee on drug dependence thirty-eight meeting. *Drugscience*. 2016.

Da Rosa L. Cultivo de cânhamo no brasil. IX encontro de pós graduação em história econômica e 7ª conferência internacional de história de empresas, usp/ribeirão preto [Internet]. 2018 [cited 2021/11/11]. Available from: http://www.abphe.org.br/uploads/Encontro_2018/DA%20ROSA.%20CULTIVO%20DO%20C%3%82NHAMO%20NO%20BRASIL.pdf

Da Silva BP, Abrahão J, Peralta RM. Effects of carbon sources and time of cultivation on the antimicrobial activities of intra and extracellular extracts of *pleurotus pulmonarius* cultured in submerged conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2016; 5(11): 97-105. doi: 10.20546/ijcmas.2016.511.011

Dabrowski A. Adsorption - from theory to practice. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2001; 93(1-3): 135-224. doi: 10.1016/s0001-8686(00)00082-8

Dai D, Fan M. Characteristic and performance of elementary hemp fibre. *Materials Sciences and Applications*, 2010; 1(6): 336-342. doi: 10.4236/msa.2010.16049

De Almeida M, da Rocha BA, Francisco CRL, Miranda CG, Santos PDD, de Araujo PHH, et al. Evaluation of the in vivo acute antiinflammatory response of curcumin-loaded nanoparticles. *Food & Function*, 2018; 9(1): 440-449. doi: 10.1039/c7fo01616f

De Oliveira JC. A real feitoria do linho cânhamo do rincão de canguçu (1783-1789): A produção e a reprodução historiográfica. *Especialização (história)*. Universidade do vale do rio dos sinos (São Leopoldo/RS, Brasil). 2008.

De Oliveira JC. Fibra de linho num palmo de terra: A ocupação das terras da feitoria do linho cânhamo. *História Unicap*, 2014; 1(2): 166-173. doi: 10.25247/hu.2014.v1n2.pp.166-173

Decorte T. Fibre hemp and marihuana: Assessing the differences between distinct varieties. *police reforms & community safety working paper nº 38* [Internet]. 2011 [cited 2021/11/11]. Available from: <https://www.ugent.be/re/csr/nl/onderzoeksgroepen/isd/publicaties/workingpaper.pdf>

Demeijer EPM, Vanderkamp HJ, Vaneeuwijk FA. Characterization of cannabis accessions with regard to cannabinoid content in relation to other plant characters. *Euphytica*, 1992; 62(3): 187-200. doi: 10.1007/bf00041753

Devane WA, Dysarz FA, 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*, 1988; 34(5): 605-13.

Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*, 1992; 258(5090): 1946-1949. doi: 10.1126/science.1470919

Dewey LH. Hemp p. 283-346. In: 1913, yearbook of the united states department of agriculture. washington government printing office [Internet]. 1914 [cited 2021/11/09]. Available from: <https://archive.org/details/yoa1913/page/n323/mode/2up?q=hemp>

Dickman D, Levin D. Crystalline form of cannabidiol. us20170349518a1. 2017.

Dizbay-Onat M, Vaidya UK, Balanay JAG, Lungu CT. Preparation and characterization of flax, hemp and sisal fiber-derived mesoporous activated carbon adsorbents. *Adsorption Science & Technology*, 2018; 36(1-2): 441-457. doi: 10.1177/0263617417700635

Dombrowski RJ, Lastoskie CM, Hyduke DR. The horvath–kawazoe method revisited. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2001; 187-188: 23-39. doi: 10.1016/S0927-7757(01)00618-5

Donohue MD, Aranovich GL. Classification of gibbs adsorption isotherms. *Advances in Colloid and Interface Science*, 1998; 76-77: 137-152. doi: 10.1016/S0001-8686(98)00044-X

Dorez G, Ferry L, Sonnier R, Taguet A, Lopez-Cuesta JM. Effect of cellulose, hemicellulose and lignin contents on pyrolysis and combustion of natural fibers. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2014; 107: 323-331. doi: 10.1016/j.jaap.2014.03.017

Dos Santos NA, Souza LM, Domingos E, França HS, Lacerda V, Beatriz A, et al. Evaluating the selectivity of colorimetric test (fast blue bb salt) for the cannabinoids identification in marijuana street samples by uv–vis, tlc, esi(+)-ft-icr ms and esi(+)-ms/ms. *Forensic Chemistry*, 2016; 1: 13-21. doi: 10.1016/j.forc.2016.07.001

DOU. Documento do diário oficial da união (18 de janeiro de 2008). P. 329. 2008.

DrugBank. Cannabiol. Drugbank of canada [Internet]. 2019 [cited 2019/09/21]. Available from: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB09061>

El-Hendawy ANA, Alexander AJ, Andrews RJ, Forrest G. Effects of activation schemes on porous, surface and thermal properties of activated carbons prepared from cotton stalks. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2008; 82(2): 272-278. doi: 10.1016/j.jaap.2008.04.006

ElSohly MA. Marijuana and the cannabinoids. Doi: 10.1007/978-1-59259-947-9. New Jersey: Humana Press; 2007. ISBN 1-58829-456-0.

ENDOCA. Mature stems and seeds extract. Endoca, los angeles, ca, usa [Internet]. 2019 [cited 2019/09/22]. Available from: <https://www.endoca.com/en-gb/product/hempolie-pasta-3000mg-cbd-cbda/>

Epstein J, Sanderson IR, MacDonald TT. Curcumin as a therapeutic agent: The evidence from in vitro, animal and human studies. *British Journal of Nutrition*, 2010; 103(11): 1545-1557. doi: 10.1017/s0007114509993667

ErvaBioSciences. Erva cbd encapsulated oil [Internet]. 2019 [cited 2021/09/21]. Available from: ervabiosciences.com/blogs/news/erva-cbd-encapsulated-oil

Falco C, Caballero FP, Babonneau F, Gervais C, Laurent G, Titirici MM, et al. Hydrothermal carbon from biomass: Structural differences between hydrothermal and pyrolyzed carbons via c-13 solid state nmr. *Langmuir*, 2011; 27(23): 14460-14471. doi: 10.1021/la202361p

FAO. Hemp statistics. Food and agricultures organization of the united nations [Internet]. 2016 [cited 2018/11/01]. Available from: <http://faostat.fao.org/>

Fasinu P, Pillay V, Ndesendo VMK, du Toit LC, Choonara YE. Diverse approaches for the enhancement of oral drug bioavailability. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 2011; 32(4): 185-209. doi: 10.1002/bdd.750

Fassio A, Rodríguez MJ, Ceretta S. Cáñamo (*cannabis sativa* L.). Boletín de divulgación nº 103 (noviembre). Montevideo: INIA – Instituto Nacional de Investigación Agropecuária del Uruguay; 2013.

FDA. Fda regulation of cannabis and cannabis-derived products: Questions and answers. Food and drugs administration of united states of america [Internet]. 2019 [cited 2019/09/21]. Available from: <https://www.fda.gov/news-events/public-health-focus/fda-regulation-cannabis-and-cannabis-derived-products-questions-and-answers>

FDA. Fda advances work related to cannabidiol products with focus on protecting public health, providing market clarity. Food drug administration [Internet]. 2020 [cited 2021/11/11]. Available from: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-advances-work-related-cannabidiol-products-focus-protecting-public-health-providing-market>

Fernandez-Tendero E, Day A, Legros S, Habrant A, Hawkins S, Chabbert B. Changes in hemp secondary fiber production related to technical fiber variability revealed by light microscopy and attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy. *Plos One*, 2017; 12(6): doi: 10.1371/journal.pone.0179794

Ferro GA, Ahmad S, Khushnood RA, Restuccia L, Tulliani JM. Improvements in self-consolidating cementitious composites by using micro carbonized aggregates. *Frattura ed Integrità Strutturale*, 2014; 8(30): 75-83.

Fetterman PS, Keith ES, Waller CW, Guerrero O, Doorenbos NJ, Quimby MW. Mississippi-grown cannabis-sativa I - preliminary observation on chemical definition of phenotype and variations in tetrahydrocannabinol content versus age, sex, and plant part. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1971; 60(8): 1246-+. doi: 10.1002/jps.2600600832

Figueiredo J, Órfão J. Fisissorção em sólidos macro e mesoporosos. In: 2o curso ibero-americano sobre caracterização de catalisadores e adsorventes. São carlos/sp, p. 1-21. 2001.

Figueiredo JL, Pereira MFR, Freitas MMA, Órfão JJM. Modification of the surface chemistry of activated carbons. *Carbon*, 1999; 37(9): 1379-1389. doi: 10.1016/S0008-6223(98)00333-9

Fitriani IN, Utami W, Zikri AT, Santoso P. In silico approach of potential phytochemical inhibitor from moringa oleifera, cocos nucifera, allium cepa, psidium guajava, and eucalyptus globulus for the treatment of covid-19 by molecular docking. *Research Square*, 2021: doi: 10.21203/rs.3.rs-42747/v1

French AD. Glucose, not cellobiose, is the repeating unit of cellulose and why that is important. *Cellulose*, 2017; 24(11): 4605-4609. doi: 10.1007/s10570-017-1450-3

Fritschi G, Klein B, Szilluweit W. Verteilung der thc-gehalte in marihuanapflanzen. *Toxichem + Krimtech*, 2006; 73(2): 54-56.

Friuli V, Bruni G, Musitelli G, Conte U, Maggi L. Influence of dissolution media and presence of alcohol on the in vitro performance of pharmaceutical products containing an insoluble drug. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018; 107(1): 507-511. doi: 10.1016/j.xphs.2017.06.001

FSANZ. Hemp regulation. Food standards australia new zealand [Internet]. 2019 [cited 2019/09/21]. Available from: http://www.foodstandards.gov.au/code/applications/Documents/A1039%20Low%20THC%20hemp%20AR%20SD5%20Hemp%20regs%20Aust%20_%20NZ.doc

Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. *Journal of the American Chemical Society*, 1964; 86(8): 1646-+. doi: 10.1021/ja01062a046

Garrett ER, Hunt CA. Physicochemical properties, solubility, and protein-binding of delta-9-tetrahydrocannabinol. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1974; 63(7): 1056-1064. doi: 10.1002/jps.2600630705

Garriott W. Change is in the air: The smell of marijuana, after legalization. *Law & Social Inquiry*, 2020; 45(4): 995-1026. doi: 10.1017/lsi.2020.6

Garside P, Wyeth P. Identification of cellulosic fibres by ftir spectroscopy: Thread and single fibre analysis by attenuated total reflectance. *Studies in Conservation*, 2003; 48(4): 269-275.

Gaylord. Simethyl sulfoxide - solubility data. Bulletin 102 [Internet]. 2014 [cited 2021.11.11]. Available from: <https://www.gaylordchemical.com/content/uploads/2020/08/GC-Literature-102B-ENG-Low.pdf>

Gedik G, Avinc O. Hemp fiber as a sustainable raw material source for textile industry: Can we use its potential for more eco-friendly production? In: SS Muthu and MA Gardetti, editors. *Sustainability in the textile and apparel industries: Sourcing natural raw materials*. Cham: Springer International Publishing; 2020. p. 87-109. ISBN 978-3-030-38541-5.

Gertsch J, Leonti M, Raduner S, Racz I, Chen JZ, Xie XQ, et al. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008; 105(26): 9099-9104. doi: 10.1073/pnas.0803601105

Gilligan I. Clothing. In: TK Shackelford and VA Weekes-Shackelford, editors. *Encyclopedia of evolutionary psychological science*. Springer; 2021. ISBN 978-3-319-19649-7.

Giudicianni P, Cardone G, Ragucci R. Cellulose, hemicellulose and lignin slow steam pyrolysis: Thermal decomposition of biomass components mixtures. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2013; 100: 213-222. doi: 10.1016/j.jaap.2012.12.026

Gloss D. An overview of products and bias in research. *Neurotherapeutics*, 2015; 12(4): 731-734. doi: 10.1007/s13311-015-0370-x

Goldstein MJ. *Legalizing marijuana : Promises and pitfalls*. Minneapolis: Twenty-First Century Books; 2016. ISBN 978-1467792431.

Gomes TA, Costa SPM, Medeiros GCRd, Silva CRd, Lyra MAMd, Silva KERd, et al. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe ii: Efavirenz. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 2015; 36(2): 239-249. ISSN 1808-4532.

González-Mariscal I, Carmona-Hidalgo B, Winkler M, Unciti-Broceta JD, Escamilla A, Gómez-Cañas M, et al. (+)-trans-cannabidiol-2-hydroxy pentyl is a dual cb1r antagonist/cb2r agonist that prevents diabetic nephropathy in mice. *Pharmacological Research*, 2021; 169: 105492. doi: 10.1016/j.phrs.2021.105492

GR. Yunnan province, planting and processing industrial hemp licensing provisions. Global-regulation [Internet]. 2010 [cited 2019/09/21]. Available from: global-regulation.com/translation/china/163915/yunnan-province%252c-planting-and-processing-industrial-hemp-licensing-provisions.html

Grabowska L, Rebarz M, Chudy M. Breeding and cultivation of industrial hemp in Poland. *Herba Polonica*, 2009; 55(3): 328-334.

Grijó DR. Análise cromatográfica do óleo das sementes de cânhamo (*Cannabis sativa* L.). Monografia de Graduação (Engenharia Química). Universidade Federal do Espírito Santo (São Mateus/ES, Brasil). 2015; <https://drive.google.com/file/d/1XqfRddLXb6y-oicwlmaQ0b2WdIKLHNJZ>.

Grijó DR, Melo BNd. Óleo de sementes de cânhamo: ácidos graxos poli-insaturados. *Revista Brasileira de Biomassa e Energia*. 2016; ; 25: 30-30. https://issuu.com/revistabiomassabr/docs/revista_biomassabr_ed_25_low.

Grijó DR, Cardozo-Filho L. Análise de canabinóides neutros em derivados de *Cannabis* via GC/MS. In: V Semana de Engenharia Química UFES. Anais: Blucher Chemical Engineering Proceedings, 2017; 4(1): 23-27. doi: 10.5151/SEQUFES2016-006

Grijó DR, Maceiras L, Callejas N, Vieitez I, Cardozo-Filho L. Extracción y caracterización del aceite de semillas de cáñamo (*Cannabis sativa* L.). in: VI Encuentro Regional de Ingeniería Química, AIQU - Asociación de Ingenieros Químicos del Uruguay. 2017; http://www.aiqu.org.uy/encuentro2017/src/assets/presentacion/14_Trabajo%20completo_Extraccion%20supercritica%20semillas%20cannabis.pdf.

Grijó DR. Extração de bioativos derivados de *Cannabis* via fluidos pressurizados. Dissertação de Mestrado (Engenharia Química). Universidade Estadual de Maringá (Maringá/PR, Brasil). 2018; <http://repositorio.uem.br:8080/jspui/handle/1/5862>.

Grijó DR, Piva GK, Osorio IV, Cardozo L. Hemp (*cannabis sativa* L.) seed oil extraction with pressurized n-propane and supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids*, 2019a; 143: 268-274. doi: 10.1016/j.supflu.2018.09.004

Grijó DR, Vieitez Osorio IA, Cardozo-Filho L. Supercritical extraction strategies using CO₂ and ethanol to obtain cannabinoid compounds from *Cannabis* hybrid flowers. *Journal of CO₂ Utilization*, 2019b; 30: 241-248. doi: 10.1016/j.jcou.2018.12.014

Grijó DR, Bidoia DL, Nakamura CV, Osorio IV, Cardozo L. Analysis of the antitumor activity of bioactive compounds of cannabis flowers extracted by green solvents. *Journal of Supercritical Fluids*, 2019c; 149: 20-25. doi: 10.1016/j.supflu.2019.03.012

Grijó DR, Motta Lima OC. Análise da estrutura química do canabidiol utilizando diferentes técnicas de ressonância magnética nuclear. <http://www.ctc.uem.br/seq/arquivos/anaisviii.Pdf>. *Semana de Engenharia Química UEM* (ISSN: 2317-7195), 2019; VIII: 290-305.

Grijó DR, Olivo JE, da Motta Lima OC. Simple chemical tests to identify cannabis derivatives: Redefinition of parameters and analysis of concepts. *Journal of Forensic Sciences*, 2021; 66(5): 1647-1657. doi: 10.1111/1556-4029.14777

Grijó DR, Olivo JE, da Motta Lima OC. Analysis of the different solubility data of cannabidiol in supercritical carbon dioxide described in the literature. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 2022; 39(1): 225-234: doi: 10.1007/s43153-021-00128-z

- Guerriero G, Behr M, Legay S, Mangeot-Peter L, Zorzan S, Ghoniem M, et al. Transcriptomic profiling of hemp bast fibres at different developmental stages. *Scientific Reports*, 2017; 7(1): 4961. doi: 10.1038/s41598-017-05200-8
- Hall W. The indian hemp drugs commission 1893–1894. *Addiction*, 2019; 114(9): 1679-1682. doi: 10.1111/add.14640
- Hancock BC, Zograf G. Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1997; 86(1): 1-12. doi: 10.1021/js9601896
- Hayes MHB, Mylotte R, Swift RS. Humin: Its composition and importance in soil organic matter. *Advances in Agronomy*, Vol 143, 2017; 143: 47-138. doi: 10.1016/bs.agron.2017.01.001
- Hazekamp A. An indian perspective on cannabis for treatment of pain. *International Journal of Ayurveda and Pharmaceutical Chemistry* 2017; 7(3): 22-51.
- Hazekamp A, Choi YH, Verpoorte R. Quantitative analysis of cannabinoids from *cannabis sativa* using ¹H-NMR. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2004; 52(6): 718-721. doi: 10.1248/cpb.52.718
- Hazekamp A, Peltenburg A, Verpoorte R, Giroud C. Chromatographic and spectroscopic data of cannabinoids from cannabis sativa I. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2005; 28(15): 2361-2382. doi: 10.1080/10826070500187558
- He L. Hemp-related stocks surge after third chinese province expected to legalise cultivation. *South china morning post*, (18 de fevereiro) [Internet]. 2019 [cited 2019/09/20]. Available from: <https://www.scmp.com/business/companies/article/2186602/hemp-related-stocks-surge-after-third-chinese-province-expected>
- He W, Foth PJ, Roggen M, Sammis GM, Kennepohl P. Why is thca decarboxylation faster than cbda? An in silico perspective. *ChemRxiv*, 2020: doi: 10.26434/chemrxiv.12909887.v1
- HempMeds. Real scientific hemp oil (mature stalk) (rsho). *Hempmeds px, poway, ca, usa* [Internet]. 2019 [cited 2019/09/19]. Available from: <https://hempmedspx.com/product/rsho-gold3g/>
- Heschel W, Klose E. On the suitability of agricultural by-products for the manufacture of granular activated carbon. *Fuel*, 1995; 74(12): 1786-1791. doi: 10.1016/0016-2361(95)80009-7
- Ho MP, Lau AKT. 12 - amorphous carbon nanocomposites. In: Y Dong, R Umer and AK-T Lau, editors. *Fillers and reinforcements for advanced nanocomposites*. Woodhead Publishing; 2015. p. 309-328. ISBN 978-0-08-100079-3.
- Ho YS. Review of second-order models for adsorption systems. *Journal of Hazardous Materials*, 2006; 136(3): 681-689. doi: 10.1016/j.jhazmat.2005.12.043
- HOC. Hemp quality. *Hemp oil canadian*. [Internet]. 2015 [cited 2015/04/15]. Available from: <http://www.hemipoilcan.com>
- Hoffmann R, Kabanov AA, Golov AA, Proserpio DM. Homo citans and carbon allotropes: For an ethics of citation. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2016; 55(37): 10962-10976. doi: 10.1002/anie.201600655
- Horcajada P, Ramila A, Perez-Pariente J, Vallet-Regi M. Influence of pore size of mcm-41 matrices on drug delivery rate. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2004; 68(1-3): 105-109. doi: 10.1016/j.micromeso.2003.12.012

Hossain MZ, Wu W, Xu WZ, Chowdhury MBI, Jhawar AK, Machin D, et al. High-surface-area mesoporous activated carbon from hemp bast fiber using hydrothermal processing. *C*, 2018; 4(3): doi: 10.3390/c4030038

Hu Z, Srinivasan MP. Mesoporous high-surface-area activated carbon. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2001; 43(3): 267-275. doi: 10.1016/S1387-1811(00)00355-3

IBGE. Cnae-domiciliar 2.0. Instituto brasileiro de geografia e estatística [Internet]. 2019 [cited 2019/03/07]. Available from: <https://concla.ibge.gov.br/classificacoes/por-tema/atividades-economicas/cnae-domiciliar-2-0.html>

IHDC. Report of the indian hemp drugs commission. [Internet]. 1895 [cited 2021/01/08]. Available from: <https://digital.nls.uk/74908458>

Inácio FD, Ferreira RO, Araujo CAVd, Peralta RM, Souza CGMd. Production of enzymes and biotransformation of orange waste by oyster mushroom, *pleurotus pulmonarius* (fr.) quél. *Advances in Microbiology*, 2015; 5(1): 1-8. doi: 10.4236/aim.2015.51001

Ioannidou O, Zabaniotou A. Agricultural residues as precursors for activated carbon production - a review. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2007; 11(9): 1966-2005. doi: 10.1016/j.rser.2006.03.013

Jacobs AD, Steiner RR. Detection of the duquenois–levine chromophore in a marijuana sample. *Forensic Science International*, 2014; 239: 1-5. doi: 10.1016/j.forsciint.2014.02.031

Janischevsky DE. A form of hemp in wild areas of southeastern russia. *NG Černyševskogo Universiteta*, 1924; 2: 3-17.

Jankauskiene Z, Gruzdeviene E. Physical parameters of dew retted and water retted hemp (*cannabis sativa* L.) fibres. *Zemdirbyste-Agriculture*, 2013; 100(1): 71-80. doi: 10.13080/z-a.2013.100.010

Jiang ZW, Fang Y, Xiang JF, Ma YP, Lu A, Kang HL, et al. Intermolecular interactions and 3d structure in cellulose-naoh-urea aqueous system. *Journal of Physical Chemistry B*, 2014; 118(34): 10250-10257. doi: 10.1021/jp501408e

Johann R. Na trama dos escravos de sua majestade: O batismo e as redes de compadrio dos cativos da real feitoria do linho cânhamo (1788-1798). trabalho de conclusão de curso(história). Universidade federal do rio grande do sul (porto alegre/rs, brasil). 2010.

Jones PG, Falvello L, Kennard O, Sheldrick GM, Mechoulam R. Cannabidiol. *Acta Crystallographica Section B*, 1977; 33: 3211-3214. doi: 10.1107/S0567740877010577

Jung B, Lee JK, Kim J, Kang EK, Han SY, Lee H-Y, et al. Synthetic strategies for (-)-cannabidiol and its structural analogs. *Chemistry – An Asian Journal*, 2019; 14(21): 3749-3762. doi: 10.1002/asia.201901179

Juurlink DN. Activated charcoal for acute overdose: A reappraisal. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2016; 81(3): 482-487. doi: 10.1111/bcp.12793

Jäger H, Frohs W, Collin G, Sturm Fv, Vohler O, Nutsch G. Carbon, 1. General. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 2010: doi: 10.1002/14356007.a05_095.pub2

Kaiser CR. Rmn 2d: Detecção inversa e gradiente de campo na determinação estrutural de compostos orgânicos. *Química Nova*, 2000; 23(2): 231-236. doi: 10.1590/S0100-40422000000200014

Kamoga OLM, Byaruhanga JK, Kirabira JB. A review on pulp manufacture from non wood plant materials. International Journal of Chemical Engineering and Applications, 2013; 4(3): 144-148. doi: 10.7763/IJCEA.2013.V4.281

Kannisto H, Neuvonen PJ. Adsorption of sulfonylureas onto activated-charcoal invitro. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1984; 73(2): 253-256. doi: 10.1002/jps.2600730228

Kelly JF, Addanki K, Bagasra O. The non-specificity of the duquenois-levine field test for marijuana. The Open Forensic Science Journal, 2012; 5(1): 4-8. doi: 10.2174/1874402801205010004

Khalili NR, Campbell M, Sandi G, Golaś J. Production of micro- and mesoporous activated carbon from paper mill sludge: I. Effect of zinc chloride activation. Carbon, 2000; 38(14): 1905-1915. doi: 10.1016/S0008-6223(00)00043-9

Khan MA, Wajid A, Noor S, Khattak DK, Akhter S, Rahman Iu. Effect of soil contamination on some heavy metals content of *cannabis sativa*. Journal Chemical Society of Pakistan, 2008; 30(6): 805-809.

Ko RD, Hughes B. Cannabinoid extraction and distillation. Nextleaf solutions ltd. European patent application ep 3 623 029 a1. 2020.

Korać N, Vidic D, Sutlović D. Modified quechers extraction and gc-ms analysis of selected cannabinoids from human urine. Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina, 2020; 54(54): 37-44. doi: 10.35666/ghtbh.2020.54.07

Krapovickas A, Fryxell PA. Las especies sudamericanas de hibiscus secc. Furcaria dc. (malvaceae-hibisceae). Bonplandia, 2004; 13(1/4): 35-115.

Kushwaha PP, Singh AK, Bansal T, Yadav A, Prajapati KS, Shuaib M, et al. Identification of natural inhibitors against sars-cov-2 drugable targets using molecular docking, molecular dynamics simulation, and mm-pbsa approach. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2021; 11: 728.

Köhler HA. Köhler's medizinal-pflanzen, v.1, p. 13, p. 16, doi: 10.5962/bhl.Title.623. 1887.

Lamarck J-BPAdMd. Encyclopédique méthodique, botanique, part 2, p. 694-695. Doi: 10.5962/bhl.Title.824. 1785.

Leite JR, Carlini EA, Lander N, Mechoulam R. Anticonvulsant effects of the (-) and (+)isomers of cannabidiol and their dimethylheptyl homologs. Pharmacology, 1982; 24(3): 141-146. doi: 10.1159/000137588

Lewis K, Wagner R, Rodriguez-Cruz SE, Weaver MJ, Dumke JC. Validation of the 4-aminophenol color test for the differentiation of marijuana-type and hemp-type cannabis. Journal of Forensic Sciences, 2021; 66(1): 285-294. doi: 10.1111/1556-4029.14562

Li H-L. An archaeological and historical account of cannabis in china. Economic Botany, 1973; 28(4): 437-448. doi: 10.1007/BF02862859

Linger P, Müssig J, Fischer H, Kobert J. Industrial hemp (*cannabis sativa* l.) growing on heavy metal contaminated soil: Fibre quality and phytoremediation potential. Industrial Crops and Products, 2002; 16(1): 33-42. doi: 10.1016/S0926-6690(02)00005-5

Linnaeus C. Species plantarum, v.2, p. 1027, doi:10.5962/bhl.Title.669. 1753.

Linnaeus C. A dissertation on the sexes of plants p. 32-33. Translated from the latin by james edward smith, f. R. S. (london) [Internet]. 1786 [cited 2021/11/09]. Available from: https://books.google.com.br/books/about/A_Dissertation_on_the_Sexes_of_Plants.html?id=k0gQAQAAMAAJ&redir_esc=y

Lopez-Ramon MV, Stoeckli F, Moreno-Castilla C, Carrasco-Marin F. On the characterization of acidic and basic surface sites on carbons by various techniques. *Carbon*, 1999; 37(8): 1215-1221. doi: 10.1016/S0008-6223(98)00317-0

Lowell S, Shields JE. Powder surface area and porosity. London: Chapman and Hall; 1991. ISBN 0412396904 9780412396908.

Lozano-Castello D, Calo JM, Cazorla-Amoros D, Linares-Solano A. Carbon activation with koh as explored by temperature programmed techniques, and the effects of hydrogen. *Carbon*, 2007; 45(13): 2529-2536. doi: 10.1016/j.carbon.2007.08.021

Lv P, Zhang D, Guo M, Liu J, Chen X, Guo R, et al. Structural analysis and cytotoxicity of host-guest inclusion complexes of cannabidiol with three native cyclodextrins. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2019; 51: 337-344. doi: 10.1016/j.jddst.2019.03.015

Macia-Agullo JA, Moore BC, Cazorla-Amoros D, Linares-Solano A. Activation of coal tar pitch carbon fibres: Physical activation vs. Chemical activation. *Carbon*, 2004; 42(7): 1367-1370. doi: 10.1016/j.carbon.2004.01.013

Maggio RM, Calvo NL, Vignaduzzo SE, Kaufman TS. Pharmaceutical impurities and degradation products: Uses and applications of nmr techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2014; 101: 102-122. doi: 10.1016/j.jpba.2014.04.016

Magiera S, Gülmez Ş. Ultrasound-assisted emulsification microextraction combined with ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of ibuprofen and its metabolites in human urine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2014; 92: 193-202. doi: 10.1016/j.jpba.2014.01.012

Mandrioli M, Tura M, Scotti S, Gallina Toschi T. Fast detection of 10 cannabinoids by rp-hplc-uv method in cannabis sativa l. *Molecules*, 2019; 24(11): doi: 10.3390/molecules24112113

Mannila J, Järvinen T, Järvinen K, Jarho P. Precipitation complexation method produces cannabidiol/ β -cyclodextrin inclusion complex suitable for sublingual administration of cannabidiol. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2007; 96(2): 312-319. doi: 10.1002/jps.20766

Margalho MG. Klabin: Is empresários, a empresa e as estratégias de construção da hegemonia (1930-1951). Dissertação de mestrado (história). Universidade federal fluminense (niterói/rj, brasil). 2008.

Marino RH, Abreu LDd, Mesquita JB, Ribeiro GT. Crescimento e cultivo de diferentes isolados de pleurotus ostreatus (jacq.: Fr) kummer em serragem de casca de coco. *Arquivos do Instituto Biológico*, 2008; 75(1): 29-36. doi: 10.1590/1808-1657v75p0292008

Marrot L, Candelier K, Valette J, Lanvin C, Horvat B, Legan L, et al. Valorization of hemp stalk waste through thermochemical conversion for energy and electrical applications. *Waste and Biomass Valorization*, 2021: doi: 10.1007/s12649-021-01640-6

Mayr T, Grassl T, Korber N, Christoffel V, Bodensteiner M. Cannabidiol revisited. *IUCrData*, 2017; 2(2): doi: 10.1107/S2414314617002760

McCabe W, Smith J, Harriott P. Unit operations of chemical engineering: McGraw-hill, 5ª edição. Cap.25. Isbn: 978-0070448445. 1993.

Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochemical Pharmacology*, 1995; 50(1): 83-90. doi: 10.1016/0006-2952(95)00109-D

Mechoulam R, Gaoni Y. Recent advances in the chemistry of hashish. *Fortschr Chem Org Naturst*, 1967; 25: 175-213. doi: 10.1007/978-3-7091-8164-5_6

Mechoulam R, Shvo Y. Hashish—i: The structure of cannabidiol. *Tetrahedron*, 1963; 19(12): 2073-2078. doi: 10.1016/0040-4020(63)85022-X

Menz MM. Os escravos da feitoria do linho cânhamo: Trabalho, conflito e negociação. *Afro-Ásia*, 2005; (32): doi: 10.9771/aa.v0i32.21090

Merfield CN. Industrial hemp and its potential for new zealand: A report for the 1999 kellogg rural leadership course. [Internet]. 1999 [cited 2021/09/21]. Available from: https://researcharchive.lincoln.ac.nz/bitstream/handle/10182/4801/Industrial_hemp.pdf?sequence=1

Mestre AS, Carvalho AP. Nanoporous carbon synthesis: An old story with exciting new chapters. *Porosity - Process, Technologies and Applications*, Taher Hcine Ghrif, IntechOpen, 2017: doi: 10.5772/intechopen.72476

Michailof C, Stavropoulos GG, Panayiotou C. Enhanced adsorption of phenolic compounds, commonly encountered in olive mill wastewaters, on olive husk derived activated carbons. *Bioresource Technology*, 2008; 99(14): 6400-6408. doi: 10.1016/j.biortech.2007.11.057

Milestone. Tech note: Improving the quality and efficiency of terpene extraction from cannabis plant - highly efficient microwave processing of terpenes with the milestone ethos x [Internet]. 2019 [cited 2021/02/18]. Available from: https://milestonesci.com/wp-content/uploads/2019/06/Tech-notes_Ethos-X-Terpene-Rev-060519.pdf.pdf

Miriyala N, Ouyang DF, Perrie Y, Lowry D, Kirby DJ. Activated carbon as a carrier for amorphous drug delivery: Effect of drug characteristics and carrier wettability. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2017; 115: 197-205. doi: 10.1016/j.ejpb.2017.03.002

Moda E. Produção de pleurotus sajor-caju em bagaço de cana-de-açúcar lavado e o uso de aditivos visando sua conservação "In natura". dissertação de mestrado (ciência e tecnologia de alimentos). Universidade federal de são paulo (piracicaba/sp, brasil). 2003.

Moffat AC, Osselton MD, Widdop B, Watts J. Clarke's analysis of drugs and poisons (4th ed.). London: Pharmaceutical Press; 2011. ISBN 9780853697114 0853697116.

Montes-Moran MA, Suarez D, Menendez JA, Fuente E. On the nature of basic sites on carbon surfaces: An overview. *Carbon*, 2004; 42(7): 1219-1225. doi: 10.1016/j.carbon.2004.01.023

MOORE CD, OLSON L, METZGER PJ. Elucidating the components of oil from hemp stalks. In: *Exova: Testing / advising / assuring* [Internet]. 2016 [cited 2021/11/10]. Available from: <https://docplayer.net/31570199-Elucidating-the-components-of-oil-from-hemp-stalks.html>

Morales P, Reggio PH, Jagerovic N. An overview on medicinal chemistry of synthetic and natural derivatives of cannabidiol. *Frontiers in Pharmacology*, 2017; 8: 422.

Morin-Crini N, Loiacono S, Placet V, Torri G, Bradu C, Kostić M, et al. Hemp-based materials for metal removal. In: G Crini and E Lichtfouse, editors. Green adsorbents for pollutant removal: Innovative materials. Cham: Springer International Publishing; 2018. p. 1-34. ISBN 978-3-319-92162-4.

Motta VT. Bioquímica básica. Laboratório Autolab LTDA; 2005.

MPF. Justiça determina que união inclua na lista do sus medicamentos à base de cannabis registrados pela anvisa. Ministério público federal [Internet]. 2019 [cited 2021/11/10]. Available from: mpf.mp.br/ba/sala-de-imprensa/noticias-ba/justica-determina-que-uniao-inclua-na-lista-do-sus-medicamentos-a-base-de-cannabis-registrados-pela-anvisa?fbclid=IwAR2ZqL1sOfCxeLIAq6TD9I3LVY_le95o6biPb2H-a2FVWdf7Z0N16spF2DY

Mudge EM, Murch SJ, Brown PN. Chemometric analysis of cannabinoids: Chemotaxonomy and domestication syndrome. *Scientific Reports*, 2018; 8: doi: 10.1038/s41598-018-31120-2

Munoz B, Ramila A, Perez-Pariente J, Diaz I, Vallet-Regi M. Mcm-41 organic modification as drug delivery rate regulator. *Chemistry of Materials*, 2003; 15(2): 500-503. doi: 10.1021/cm021217q

Munro S, Thomas KL, Abushaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, 1993; 365(6441): 61-65. doi: 10.1038/365061a0

Nagarkatti P, Pandey R, Rieder SA, Hegde VL, Nagarkatti M. Cannabinoids as novel anti-inflammatory drugs. *Future Medicinal Chemistry*, 2009; 1(7): 1333-1349. doi: 10.4155/fmc.09.93

Nguyen LC, Yang D, Nicolaescu V, Best TJ, Ohtsuki T, Chen S-N, et al. Cannabidiol inhibits sars-cov-2 replication and promotes the host innate immune response. *bioRxiv : the preprint server for biology*, 2021: 2021.03.10.432967. doi: 10.1101/2021.03.10.432967

Nissen L, Zatta A, Stefanini I, Grandi S, Sgorbati B, Biavati B, et al. Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*cannabis sativa* L.). *Fitoterapia*, 2010; 81(5): 413-419. doi: 10.1016/j.fitote.2009.11.010

Noemia MQPdL. Os caminhos do olhar : Circulação, propaganda e humor recife, 1880-1914. Tese de doutorado (história). Universidade federal de pernambuco (recife/pe, brasil). 2008.

Nowicki P, Pletrzak R, Wachowska H. Siberian anthracite as a precursor material for microporous activated carbons. *Fuel*, 2008; 87(10-11): 2037-2040. doi: 10.1016/j.fuel.2007.10.008

O'Shaughnessy WB. On the preparations of the indian hemp, or gunjah: Cannabis indica their effects on the animal system in health, and their utility in the treatment of tetanus and other convulsive diseases. *Provincial Medical Journal and Retrospect of the Medical Sciences*, 1843; 5(123): 363-369.

OCS. Cannabis basics: The cannabis plant. Ontario cannabis store [Internet]. 2021 [cited 2021/11/09]. Available from: <https://ocs.ca/blogs/cannabis-anatomy/the-cannabis-plant-1#/verify-age/success>

Ottersen T, Rosenqvist E, Turner CE, El-Feraly FS. The crystal and molecular structure of cannabidiol. *Acta Chemica Scandinavica*, 1977; 31(B): 807-812. doi: 10.3891/acta.chem.scand.31b-0807

Oza S, Ning H, Ferguson I, Lu N. Effect of surface treatment on thermal stability of the hemp-pla composites: Correlation of activation energy with thermal degradation. *Composites Part B: Engineering*, 2014; 67: 227-232. doi: 10.1016/j.compositesb.2014.06.033

Paszczuk AF, Quintao NLM, Fernandes ES, Juliano L, Chapman K, Andrade-Gordon P, et al. Mechanisms underlying the nociceptive and inflammatory responses induced by trypsin in the mouse paw. *European Journal of Pharmacology*, 2008; 581(1-2): 204-215. doi: 10.1016/j.ejphar.2007.11.025

Patriota RC, Sá LACM, Sato SS. Origem, características e distribuição espacial da cannabis do polígono da maconha no estado de pernambuco. *Anuário do Instituto de Geociência*, 2021; 44: doi: 10.11137/1982-3908_2021_44_40949

Pattabhi V, Gautham N. *Biophysics*. Doi: 10.1007/0-306-47520-0. Springer, Dordrecht; 2002. ISBN 1-4020-0218-1.

Pejic BM, Kostic MM, Skundric PD, Praskalo JZ. The effects of hemicelluloses and lignin removal on water uptake behavior of hemp fibers. *Bioresource Technology*, 2008; 99(15): 7152-7159. doi: 10.1016/j.biortech.2007.12.073

Peng H, Shahidi F. Cannabis and cannabis edibles: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021; 69(6): 1751-1774. doi: 10.1021/acs.jafc.0c07472

Pereira JC, Marques JMC, Włodarczyk E, Fenert B, Zarzycki PK. Toward the understanding of micro-tlc behavior of various dyes on silica and cellulose stationary phases using a data mining approach. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 2018; 101(5): 1437-1447. doi: 10.5740/jaoacint.18-0061

Perez-Chavez AM, Mayer L, Alberto E. Mushroom cultivation and biogas production: A sustainable reuse of organic resources. *Energy for Sustainable Development*, 2019; 50: 50-60. doi: 10.1016/j.esd.2019.03.002

Pertwee RG. *Handbook of cannabis*. Doi: 10.1093/acprof:Oso/9780199662685.001.0001. Oxford: Oxford University Press; 2014. ISBN 9780199662685.

Poerschmann J, Weiner B, Wozidlo S, Koehler R, Kopinke FD. Hydrothermal carbonization of poly(vinyl chloride). *Chemosphere*, 2015; 119: 682-689. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.07.058

Presley GN, Ndimba BK, Schilling JS. Brown rot-type fungal decomposition of sorghum bagasse: Variable success and mechanistic implications. *International Journal of Microbiology*, 2018; 2018: 4961726. doi: 10.1155/2018/4961726

Punja ZK, Holmes JE. Hermaphroditism in marijuana (*cannabis sativa* L.) inflorescences – impact on floral morphology, seed formation, progeny sex ratios, and genetic variation. *Frontiers in Plant Science*, 2020; 11: 718.

Pérez J, Muñoz-Dorado J, de la Rubia T, Martínez J. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: An overview. *International Microbiology*, 2002; 5(2): 53-63. doi: 10.1007/s10123-002-0062-3

Ranalli P. *Advances in hemp research*. New York: Food Products Press; 1999. ISBN 1560228725 9781560228721.

Ranalli P, Venturi G. Hemp as a raw material for industrial applications. *Euphytica*, 2004; 140(1): 1-6. doi: 10.1007/s10681-004-4749-8

Reed AR, Williams PT. Thermal processing of biomass natural fibre wastes by pyrolysis. *International Journal of Energy Research*, 2004; 28(2): 131-145. doi: 10.1002/er.956

Restek. Can hplc-uv be used for terpenes analysis in cannabis? [Internet]. 2016 [cited 2021/11/10]. Available from:

<https://www.restek.com/en/chromatography/chromatography/can-hplc-uv-be-used-for-terpenes-analysis-in-cannabis/>

Riboulet-Zemouli K. 'cannabis' ontologies i: Conceptual issues with cannabis and cannabinoids terminology. *Drug Science, Policy and Law*, 2020; 6: 2050324520945797. doi: 10.1177/2050324520945797

Robinson R. O grande livro da cannabis: Guia completo de seu uso industrial, medicinal e ambiental. Jorge Zahar; 1999. ISBN 9788571104792.

Roe J. English and american tool builders (p. 124). McGraw-Hill Book Company; 1871. ISBN 978-1298599476.

Roivas L, Neuvonen PJ. Reversible adsorption of nicotinic-acid onto charcoal invitro. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1992; 81(9): 917-919. doi: 10.1002/jps.2600810916

Rosas JM, Bedia J, Rodriguez-Mirasol J, Cordero T. Hemp-derived activated carbon fibers by chemical activation with phosphoric acid. *Fuel*, 2009; 88(1): 19-26. doi: 10.1016/j.fuel.2008.08.004

Rouquerol J, Avnir D, Fairbridge CW, Everett DH, Haynes JH, Pernicone N, et al. Recommendations for the characterization of porous solids. *Pure and Applied Chemistry*, 1994; 66(8): 1739-1758. doi: 10.1351/pac199466081739

Rudge SR, Kurtz TL, Vessely CR, Catterall LG, Williamson DL. Preparation, characterization, and performance of magnetic iron-carbon composite microparticles for chemotherapy. *Biomaterials*, 2000; 21(14): 1411-1420. doi: 10.1016/S0142-9612(00)00006-5

Russo E. Cannabis treatments in obstetrics and gynecology: A historical review. *Journal of Cannabis Therapeutics*, 2002; 2(3-4): 5-35. doi: 10.1300/J175v02n03_02

Russo EB. History of cannabis and its preparations in saga, science, and sobriquet. *Chemistry & Biodiversity*, 2007; 4(8): 1614-1648. doi: 10.1002/cbdv.200790144

Sahu S, Pramanik K. Delignification of cotton gin waste and its optimization by using white rot fungus *pycnoporus cinnabarinus*. *Journal of Environmental Biology*, 2015; 36(3): 661-667. ISSN 0254-8704.

Sakaray A, Ramirez D. Manufacture and physical characterization of wood-derived activated carbon from south texas mesquite for environmental applications (doi: 10.1007/978-94-007-7122-2_6). In: D Ramirez, J Ren, K Jones and H Lamm, editors. *Environmental sustainability issues in the south texas-mexico border region*. Springer, Dordrecht; 2014.

Saliba EdOS, Rodriguez NM, Morais SALd, Piló-Veloso D. Ligninas: Métodos de obtenção e caracterização química. *Ciência Rural*, 2001; 31(5): 917-928. doi: 10.1590/S0103-84782001000500031

Schwarz I, Kovačević S. Textile application: From need to imagination (doi: 10.5772/intechopen.68376). In: B Kumar and S Thakur, editors. *Textiles for advanced applications*. IntechOpen; 2017.

Scion. Cannabis potency analysis by gc-fid with helium carrier gas. application note 091 [Internet]. 2021 [cited 2021/11/10]. Available from: <https://scioninstruments.com/wp-content/uploads/2021/06/AN091-Cannabis-PotencyGCFIDHelium.pdf>

Sevilla M, Macia-Agullo JA, Fuertes AB. Hydrothermal carbonization of biomass as a route for the sequestration of CO₂: Chemical and structural properties of the carbonized products. *Biomass & Bioenergy*, 2011; 35(7): 3152-3159. doi: 10.1016/j.biombioe.2011.04.032

Shen D, Xiao R, Gu S, Zhang H. The overview of thermal decomposition of cellulose in lignocellulosic biomass. *Cellulose - Biomass Conversion*, Theo van de Ven and John Kadla, IntechOpen, 2013: doi: 10.5772/51883

Shoyama Y, Morimoto S, Nishioka I. Cannabis. Xv. Preparation and stability of δ -9-tetrahydrocannabinol- β -cyclodextrin inclusion complex. *Journal of Natural Products*, 1983; 46(5): 633-637.

Sing KSW, Everett DH, Haul RAW, Moscou L, Pierotti RA, Rouquerol J, et al. Reporting physisorption data for gas solid systems with special reference to the determination of surface-area and porosity (recommendations 1984). *Pure and Applied Chemistry*, 1985; 57(4): 603-619. doi: 10.1351/pac198557040603

Sisti L, Totaro G, Vannini M, Celli A. Retting process as a pretreatment of natural fibers for the development of polymer composites. In: S Kalia, editor. *Lignocellulosic composite materials*. Cham: Springer International Publishing; 2018. p. 97-135. ISBN 978-3-319-68696-7.

Siwulski M, Drzewiecka K, Sobieralski K, Chong Y. Comparison of growth and enzymatic activity of mycelium and yielding of *Pleurotus ostreatus* (fr.) kumm. On different substrates. *Acta Scientiarum Polonorum - Hortorum Cultus*, 2010; 9(3): 45-50.

Sjöström E *Wood chemistry : Fundamentals and applications*. Book Title San Diego; Toronto, Academic Press, 1993.

Small E, Beckstead HD. Common cannabinoid phenotypes in 350 stocks of cannabis. *Lloydia-the Journal of Natural Products*, 1973; 36(2): 144-165.

Small E, Marcus D. Hemp: A new crop with new uses for north america. P. 284–326. <https://www.Hort.Purdue.Edu/newcrop/ncnu02/v5-284.Html>. In: J Janick and A Whipkey, editors. *Trends in new crops and new uses*. Alexandria: ASHS Press; 2002.

Smith T, Smith H. Process for preparing cannabine or hemp resin (<https://catalog.Hathitrust.Org/record/000640371>). *The Pharmaceutical Journal and Transactions*, 1847; 6(4): 171-173.

Snegireva A, Chernova T, Ageeva M, Lev-Yadun S, Gorshkova T. Intrusive growth of primary and secondary phloem fibres in hemp stem determines fibre-bundle formation and structure. *Aob Plants*, 2015; 7: doi: 10.1093/aobpla/plv061

Stevulova N, Cigasova J, Schwarzova I, Sicakova A, Junak J. Sustainable bio-aggregate-based composites containing hemp hurds and alternative binder. *Buildings*, 2018; 8(2): doi: 10.3390/buildings8020025

Stone NL, Murphy AJ, England TJ, O'Sullivan SE. A systematic review of minor phytocannabinoids with promising neuroprotective potential. *British Journal of Pharmacology*, 2020; 177(19): 4330-4352. doi: 10.1111/bph.15185

Sun W, Lipka SM, Swartz C, Williams D, Yang FQ. Hemp-derived activated carbons for supercapacitors. *Carbon*, 2016; 103: 181-192. doi: 10.1016/j.carbon.2016.02.090

SWGDRUG. Monographs: Marijuana. Scientific working group for the analysis of seized drugs [Internet]. 2005 [cited 2021/11/10]. Available from: <http://www.swgdrug.org/monographs/marijuana.pdf>

Szejtli J. Cyclodextrin inclusion complexes. Springer-Science + Business Media, B.V; 1988. ISBN 978-90-481-8427-9.

Theydan SK, Ahmed MJ. Adsorption of methylene blue onto biomass-based activated carbon by FeCl₃ activation: Equilibrium, kinetics, and thermodynamic studies. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2012; 97: 116-122. doi: 10.1016/j.jaap.2012.05.008

Thomsen A, Rasmussen S, Bohn B, Nielsen K, Thygesen A. Hemp raw materials: The effect of cultivar, growth conditions and pretreatment on the chemical composition of the fibres. Technical university of denmark (roskilde, denmark). Riso national laboratory. Issn: 0106-2840 [Internet]. 2005 [cited 2021/11/11]. Available from: <https://www.votehemp.com/wp-content/uploads/2018/09/ris-r-1507.pdf>

Thongpat W, Taweekun J, Maliwan K. Synthesis and characterization of microporous activated carbon from rubberwood by chemical activation with koh. Carbon Letters, 2021; 31(5): 1079-1088. doi: 10.1007/s42823-020-00224-z

Titirici MM, Thomas A, Yu SH, Muller JO, Antonietti M. A direct synthesis of mesoporous carbons with bicontinuous pore morphology from crude plant material by hydrothermal carbonization. Chemistry of Materials, 2007; 19(17): 4205-4212. doi: 10.1021/cm0707408

Tsuen-Hsui T. Chemistry and chemical technology (vol. 5): Paper and printing (part. 1). In: J Needham, editor. Science & civilisation in china. Cambridge University 1985. ISBN 9780521086905.

Turner J, Van de Griend P. History and science of knots. Vol. Volume 11. WORLD SCIENTIFIC; 1996. ISBN 978-981-02-2469-1.

UN. Convention on psychotropic substances. United nations [Internet]. 1971 [cited 2021/11/09]. Available from: https://www.unodc.org/pdf/convention_1971_en.pdf

UNODC. Review of the world cannabis situation. Bulletin on narcotics volume lviii, nos. 1 and 2, 2006. United nations office on drugs and crime. New York: United Nations; 2008. ISBN 978-92-1-148228-7.

UNODC. Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products. united nations office on drugs and crime. Doi: 10.18356/1e8e4f16-en. New York: United Nations; 2009. ISBN 978-92-1-148242-3.

UNODC. A century of international drug control. United nations office on drugs and crime. Doi: 10.18356/68cb46d1-en. Austria: United Nations; 2010. ISBN 9789210558068.

UNODC. Commission on narcotic drugs, 63rd session: Decision 63/14 (cannabis and cannabis-related substances). United nations office on drugs and crime [Internet]. 2020 [cited 2020/04/08]. Available from: www.unodc.org/unodc/en/commissions/CND/Mandate_Functions/current-scheduling-recommendations.html

Uruguai. Ley nº 19.172: Marihuana y sus derivados. República oriental do uruguay. 2013.

USA. Public law 115-334. Agriculture improvement act of 2018. United states of america [Internet]. 2018 [cited 2019/09/20]. Available from: <https://www.congress.gov/115/plaws/publ334/PLAW-115publ334.pdf>

USDA. Industrial hemp in united states: Status and market potential. ages-001e: P. 5-8 of 43 (harvesting, retting, and fiber separation). United states department of agriculture [Internet]. 2000 [cited 219/09/22]. Available from: <https://www.ers.usda.gov/publications/pub-details/?pubid=41757>

USSEC. Annual report of china health industries holding inc. (sec accession no. 0001213900-18-013171). United states securities and exchange commission. 2018.

Vallet-Regi M, Ramila A, del Real RP, Perez-Pariente J. A new property of mcm-41: Drug delivery system. Chemistry of Materials, 2001; 13(2): 308-311. doi: 10.1021/cm0011559

van Breemen RB, Muchiri RN, Bates TA, Weinstein JB, Leier HC, Farley S, et al. Cannabinoids block cellular entry of sars-cov-2 and the emerging variants. Journal of Natural Products, 2022: doi: 10.1021/acs.jnatprod.1c00946

Van Roekel Jr G. Hemp pulp and paper production. <https://druglibrary.Net/olsen/hemp/iha/iha01105.Html>. Journal of the International Hemp Association, 1994; 1: 12-14.

Vargas AMdM. Preparação e caracterização de carvões ativados obtidos a partir de vagens de flamboyant (delonix regia) mediante ativação química com naoh. Dissertação de mestrado (química). Universidade estadual de maringá (maringá/pr, brasil). 2010.

Varian. Analytical methods - flame atomic absorption spectrometry: Publication no 85-100009-00. Victoria: Varian Australia Pty Ltd (A.C.N 004 559 540); 1989.

VDFS. 4-ap (cannabis typification) field tests. Forensic kits. Virginia department of forensic science [Internet]. 2019 [cited 2021/02/18]. Available from: <https://www.dfs.virginia.gov/field-test-kits/4-ap-cannabis-typification-field-tests/>

Vignon MR, Garcia-Jaldon C, Dupeyre D. Steam explosion of woody hemp chènevotte. International Journal of Biological Macromolecules, 1995; 17(6): 395-404. doi: 10.1016/0141-8130(96)81852-6

Vlad R-A, Sovány T, Kristó K, Ibrahim YH-EY, Ciurba A, Aigner Z, et al. Structural and thermal analysis of cannabidiol orodispersible formulations. Farmacia, 2021; 69(3): 426-433. doi: 10.31925/farmacia.2021.3.5

Vukcevic MM, Kalijadis AM, Vasiljevic TM, Babic BM, Lausevic ZV, Lausevic MD. Production of activated carbon derived from waste hemp (cannabis sativa) fibers and its performance in pesticide adsorption. Microporous and Mesoporous Materials, 2015; 214: 156-165. doi: 10.1016/j.micromeso.2015.05.012

Vukcevic MM, Pejic BM, Pajic-Lijakovic IS, Kalijadis AM, Kostic MM, Lausevic ZV, et al. Influence of the precursor chemical composition on heavy metal adsorption properties of hemp (cannabis sativa) fibers based biocarbon. Journal of the Serbian Chemical Society, 2017; 82(12): 1417-1431. doi: 10.2298/jsc170310080v

Wang P, Ye H, Yin YX, Chen H, Bian YB, Wang ZR, et al. Fungi-enabled synthesis of ultrahigh-surface-area porous carbon. Advanced Materials, 2019; 31(4): doi: 10.1002/adma.201805134

Wang XF, Liu P, Tian Y. Ordered mesoporous carbons for ibuprofen drug loading and release behavior. Microporous and Mesoporous Materials, 2011a; 142(1): 334-340. doi: 10.1016/j.micromeso.2010.12.018

Wang XM, Xu LJ, Xu JH, Zhang GZ, Wu SB Preparation and capability of activated carbons with high specific surface area by microbial enzymatic and chemical activation. Book Title, 2011b. p. 225-+.

Warf B. High points: An historical geography of cannabis. *Geographical Review*, 2014; 104(4): 414-438. doi: 10.1111/j.1931-0846.2014.12038.x

Wendrich W. Rope and knots in ancient egypt. In: H Selin, editor. *Encyclopaedia of the history of science, technology, and medicine in non-western cultures*. Dordrecht: Springer Netherlands; 2008. p. 1908-1910. ISBN 978-1-4020-4425-0.

WHO. Fortieth meeting of the expert committee on drug dependence (40th ecdd). World health organization [Internet]. 2018 [cited 2019/09/21]. Available from: https://www.unodc.org/unodc/en/commissions/CND/Mandate_Functions/current-scheduling-recommendations.html

Williams PT, Reed AR. Pre-formed activated carbon matting derived from the pyrolysis of biomass natural fibre textile waste. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2003; 70(2): 563-577. doi: 10.1016/S0165-2370(03)00026-3

Williams PT, Reed AR. High grade activated carbon matting derived from the chemical activation and pyrolysis of natural fibre textile waste. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2004; 71(2): 971-986. doi: 10.1016/j.jaap.2003.12.007

Wilsie CP, Black CA, Aandahl AR. Hemp production experiments cultural practices and soil requirements. P63. <https://lib.Dr.lastate.Edu/bulletin/vol3/iss63/1>. *Bulletin P*, 1944; 3:

Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1962; 111(3): 544-547. doi: 10.3181/00379727-111-27849

Wisniewski-Rebecca ES, Rocha BA, Wiirzler LAM, Cuman RKN, Velazquez-Martinez CA, Bersani-Amado CA. Synergistic effects of anethole and ibuprofen in acute inflammatory response. *Chemico-Biological Interactions*, 2015; 242: 247-253. doi: 10.1016/j.cbi.2015.10.013

Wolfender J-L. Hplc in natural product analysis: The detection issue. *Planta Med*, 2009; 75(07): 719-734.

Wood TB, Spivey WTN, Easterfield TH. Iii.—cannabinol. Part i. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 1899; 75(0): 20-36. doi: 10.1039/CT8997500020

Wu CY, Benet LZ. Predicting drug disposition via application of bcs: Transport/absorption/elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. *Pharmaceutical Research*, 2005; 22(1): 11-23. doi: 10.1007/s11095-004-9004-4

Wu FC, Tseng RL, Juang RS. Preparation of highly microporous carbons from fir wood by koh activation for adsorption of dyes and phenols from water. *Separation and Purification Technology*, 2005; 47(1-2): 10-19. doi: 10.1016/j.seppur.2005.03.013

Yaneva ZL. Nonsteroidal anti-inflammatory drug solid-state microencapsulation on green activated carbon - mass transfer and host-guest interactions. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 2019; 33(2): 249-269. doi: 10.15255/cabeq.2019.1656

Yang H, Yan R, Chen H, Lee DH, Zheng C. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, 2007; 86(12): 1781-1788. doi: 10.1016/j.fuel.2006.12.013

Yang L, An D, Turner JA. Handbook of chinese mythology. New York: Oxford University Press; 2008. ISBN 9780195332636 0195332636.

Yaws C, Wang X, Satyro M. Refractive index, dipole moment, and radius of gyration (p. 239–264). In: C Yaws, editor. Chemical properties handbook: Physical, thermodynamic, environmental, transport, safety, and health related properties for organic and inorganic chemicals. New York: McGraw-Hill Education; 1999. ISBN 0070734011 9780070734012.

Çeçen F, Aktaş Ö. Water and wastewater treatment: Historical perspective of activated carbon adsorption and its integration with biological processes (doi: 10.1002/9783527639441.Ch1). In: F Çeçen and Ö Aktaş, editors. Activated carbon for water and wastewater treatment. 2011.

8 Anexos

Anexo 1 (página 148): AEP nº 005/2020;

Anexo 2 (página 149): AI-468-2020;

Anexo 3 (página 150): Certificado de pureza

Anexo 4 (página 151): AEP nº 004/2021

Anexo 5 (página 152): Dados BSPO

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexado em carreadores

09/04/2020

SEI/ANVISA - 0970280 - Certidão



CERTIDÃO



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
 MINISTÉRIO DA SAÚDE
 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA
 Quinta Diretoria
 Gerência-Geral de Monitoramento de Produtos Sujeitos à Vigilância Sanitária
 Gerência de Produtos Controlados
 Coordenação de Controle e Comércio Internacional de Produtos Controlados

AUTORIZAÇÃO ESPECIAL PARA ESTABELECIMENTO

DE ENSINO E PESQUISA N. 005/2020

Autorizo a Universidade Estadual de Maringá (CNPJ: 79.151.312/0001-56) a adquirir a substância abaixo listada para utilizá-las no projeto de pesquisa "**Análise dos possíveis benefícios anti-inflamatórios obtidos pela administração oral de canabidiol puro e adsorvido em carvão ativado**".

SUBSTÂNCIA	QUANTIDADE
Canabidiol - pureza > 99,5%	5 g

O controle e a guarda dos produtos acima ficarão sob a responsabilidade do Eng. Químico Oswaldo Curty da Motta Lima, CPF n. 599.138.007-49, RG 13604771-0 SSP/PR e CRQ/PR nº 09301673.

O responsável deverá encaminhar a esta Agência, trimestral e anualmente, o Balanço de Substâncias Psicoativas e Outras sujeitas a Controle Especial – BSPO (anexo XX da Portaria SVS/MS n.º 344/98) relativo à movimentação dos referidos produtos.

Segue em complementação o Ofício nº 14/2020/SEI/COCIC/GPCON/GGMON/DIRE5/ANVISA com orientações e esclarecimentos quanto a importação dos produtos solicitados.

Esta Autorização é válida por 1 (um) ano.

Brasília – DF, 03 de abril de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Brasil Silverio**, Coordenador de Controle e Comércio Internacional de Produtos Controlados, em 09/04/2020, às 09:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2015/Decreto/D8539.htm.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.anvisa.gov.br/autenticidade>, informando o código verificador **0970280** e o código CRC **0297D16A**.

Referência: Processo nº 25351.912488/2020-12

SEI nº 0970280

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexado em carreadores



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA SAÚDE
AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA

CONVENÇÃO ÚNICA SOBRE ENTORPECENTES DE 1961.
SINGLE CONVENTION ON NARCOTIC DRUGS, 1961.

CONVENÇÃO SOBRE SUBSTÂNCIAS PSICOTRÓPICAS DE 1971.
CONVENTION ON PSYCHOTROPIC SUBSTANCES, 1971.

CONVENÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS CONTRA O TRÁFICO ILÍCITO
DE ENTORPECENTES E DE SUBSTÂNCIAS PSICOTRÓPICAS DE 1988
*UNITED NATIONS CONVENTION AGAINST THE ILLICIT TRAFFIC IN
NARCOTIC DRUGS AND PSYCHOTROPIC SUBSTANCES, 1988*

NÚMERO/ANO AI-468-2020
NUMBER/YEAR

AUTORIZAÇÃO DE IMPORTAÇÃO
DE SUBSTÂNCIAS E MEDICAMENTOS SUJEITOS A CONTROLE ESPECIAL
IMPORT AUTHORIZATION
OF SUBSTANCES AND MEDICINES UNDER SPECIAL CONTROL

NOME E ENDEREÇO DA EMPRESA IMPORTADORA / *NAME AND ADDRESS OF THE IMPORTER*

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
AV. COLOMBO, 5790 CAMPUS UNIVERSITARIO 87020900 MARINGÁ PR BRAZIL

NOME E ENDEREÇO DA EMPRESA EXPORTADORA / *NAME AND ADDRESS OF THE EXPORTER*

URBANBOX, INC
7928 WEST DRIVE #706 33141 MIAMI UNITED STATES OF AMERICA

NOME E ENDEREÇO DO INTERVENIENTE COMERCIAL / *NAME AND ADDRESS OF THE TRADING*

Substância ou Medicamento, Concentração e Número de Embalagens <i>Substance or Medicine, Concentration and Number of Packages</i>	Peso da Substância <i>Weight of the Substance</i>	Teor da Substância Base % <i>Content of the Base Substance %</i>	Peso da Substância Base <i>Weight of the Base Substance</i>
5 UNIDADES DE ISO99 - BIOACTIVE ANHYDROUS HEMP OIL - ≥99 % X 1 GRAMA (AMOSTRA)	5 g	100	5 g

Data de Emissão 25.05.2020

Issue date

Válido até 25.05.2021

Validity date

Thiago Brasil Silvério
SIAPE 1492347
Coordenador
COORDENADOR DE REGISTRO DE MEDICAMENTOS

2ª Via/Copy IMPORTADOR / IMPORTER

- Esta Autorização é válida somente com o selo seco da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil
This Authorization is valid only with the dry stamp of the Brazilian National Health Surveillance Agency
- Não estão permitidas as remessas via postal
Postal shipments are not allowed



Certificate of Analysis

Compound Name : Cannabidiol
Batch Number : (CBD) F191106
Date of Manufacture : Oct 2019
Retest Date : May 2021
Storage Conditions : Store below 25 °C, protect from light in a sealed container
Specification Reference : BSPGS-003 v01

Attribute	Method Reference	Specification	Result
Appearance	Organoleptic	White to off-white crystalline powder, free flowing and free from visible contamination	Complies
Identification			
- FTIR	Ph. Eur. 2.2.24	Positive match to reference spectrum	Complies
- HPLC Retention Time	Ph. Eur. 2.2.29 (DAC 2016/2)	Retention time of sample matches that of standard	Complies
Melting Point (°C)	Ph. Eur. 2.2.60	65 - 69	68
Specific Optical Rotation (°)	Ph. Eur. 2.2.7	-129.5 to -135.0	-132.3
Water Content (% w/w)	Ph. Eur. 2.5.32	< 0.5	< 0.1
Sulphated Ash (% w/w)	Ph. Eur. 2.4.14	< 0.1	< 0.1
Assay by HPLC (% w/w)	Ph. Eur. 2.2.29 (DAC 2016/2)	98.0 - 102.0	99.5
Impurities by HPLC (% w/w)	Ph. Eur. 2.2.29 (DAC 2016/2)	THC	< 0.01 Not Detected
		Unknown impurities	< 0.10 RRT 0.87: 0.07
		Total impurities	< 0.50 0.07
Residual Solvents by GC (ppm)	Ph. Eur. 2.2.28	n-Heptane	< 5000 373
		Acetone	< 5000 Not Detected
		Dichloromethane	< 600 Not Detected
Microbiological Quality	Ph. Eur. 5.1.4	Total aerobic microbial count (TAMC) cfu/g	10 ³ < 10 ² cfu/g
		Total combined yeasts & mould count (TYMC) cfu/g	10 ² < 10 ¹ cfu/g
		Absence of Escherichia coli	In 1g Not isolated

This document certifies that this material has been manufactured, tested and conforms to the acceptance criteria defined in the quality management system of BSPG Laboratories Ltd.

Signed on behalf of BSPG Laboratories Ltd.

Name: Zoë Love
Title: QC Manager
Date: 23 Dec 2019

BSPG-QCOA-F-002 v0 5

Tel: 01304 806099 Email: info@bspglob.co.uk Website: www.bspg.com

Laboratory: 3rd Floor, South Pod, Discovery Park House, Discovery Park, Romsgate Road, Sandwich, CT13 9ND
VAT No. 19009629



CERTIDÃO



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
 MINISTÉRIO DA SAÚDE
 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA
 Quinta Diretoria
 Gerência-Geral de Monitoramento de Produtos Sujeitos à Vigilância Sanitária
 Gerência de Produtos Controlados
 Coordenação de Controle e Comércio Internacional de Produtos Controlados

**AUTORIZAÇÃO ESPECIAL SIMPLIFICADA PARA INSTITUIÇÃO
 DE ENSINO E PESQUISA N. 004/2021**

Autorizo a Universidade Estadual de Maringá (CNPJ: 79.151.312/0001-56) a continuar utilizando a substância abaixo listada no projeto de pesquisa "**Análise dos possíveis benefícios anti-inflamatórios obtidos pela administração oral de canabidiol puro e adsorvido em carvão ativado**".

SUBSTÂNCIA	QUANTIDADE
Canabidiol - pureza > 99,5%	4,350 g

O controle e a guarda dos produtos acima ficarão sob a responsabilidade do do Eng. Químico Oswaldo Curty da Motta Lima, CPF n. 599.138.007-49, RG 13604771-0 SSP/PR e CRQ/PR nº 09301673.

O responsável deverá encaminhar a esta Agência, trimestral e anualmente, o Balanço de Substâncias Psicoativas e Outras sujeitas a Controle Especial – BSPO (anexo XX da Portaria SVS/MS n.º 344/98) relativo à movimentação dos referidos produtos.

A presente AEP é referente a renovação da AEP 005/2020.

Esta Autorização é válida por 2 (dois) anos.

Brasília – DF, 04 de março de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Moema Luisa Silva Macedo, Coordenador(a) de Controle e Comércio Internacional de Produtos Controlados**, em 04/03/2021, às 15:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Atos2015-2018/2015/Decreto/D8539.htm.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.anvisa.gov.br/autenticidade>, informando o código verificador **1355093** e o código CRC **DF2CD487**.

Caracterização do canabidiol não sintético puro e complexado em carreadores



MINISTÉRIO DA SAÚDE

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BALANÇO DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS E OUTRAS SUJEITAS A CONTROLE ESPECIAL - BSPO

IDENTIFICAÇÃO DO ESTABELECIMENTO:

Universidade Estadual de Maringá (UEM)
Av. Colombo, 5790 - Maringá/PR - CEP: 87.020-900
CNPJ: 079.151.312/0001-56

AUTORIDADE SANITÁRIA LOCAL:

Secretaria Municipal de Saúde, Vigilância Sanitária (VISA/Maringá/PR)
Av. Prudente de Moraes, 885 - Maringá/PR - CEP: 87.010-020

IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO CONTROLADO

Denominação Comum Brasileira: *Cannabis sativa* L.
Número DCB: 11543

BSPO Tipo e ano	AEP Número	Quantidade (g)				Enviado à ANVISA dados assinados pela UEM e VISA (via plataforma "SOLICITA")				
		Início	Imp.	Uso	Fim	Data	Protocolo	Expediente	Transação	Processo
2º trimestre 2020	005/2020	0,00	0,00	-0,00	0,00	03/07/20	25352078604202054	2135875201	5271722020	25351622209202021
3º trimestre 2020	005/2020	0,00	5,00	-0,50	4,50	01/10/20	25352855878202078	3369126206	7863422020	25351092989202072
4º trimestre 2020	005/2020	4,50	0,00	-0,15	4,35	12/01/21	25352982233202198	0144204215	250122021	25351849976202167
Ano 2020	005/2020	0,00	5,00	-0,65	4,35	12/01/21	25352982276202173	0144216213	250192021	25351849997202182
1º trimestre 2021	004/2021	4,35	0,00	-0,40	3,95	05/04/21	25352838115202143	1302683217	2807142021	25351286310202195
2º trimestre 2021	004/2021	3,95	0,00	-3,05	0,90	08/07/21	25352639887202102	2727976216	6115352021	25351755024202183
3º trimestre 2021	004/2021	0,90	0,00	-0,10	0,80	04/10/21	25352842046202172	3933427215	8934542021	25351460829202141
4º trimestre 2021	004/2021	0,80	0,00	-0,80	0,00	13/01/22	20220000000149202	0162695225	334862022	25351019919202231
Ano 2021	004/2021	4,35	0,00	-4,35	0,00	13/01/22	20220000000153038	0167160222	361492022	25351021221202286

OUTRAS LEGENDAS: AEP = Autorização especial para estabelecimento de Ensino e Pesquisa; Imp. = Importada.