

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Efeitos terapêuticos e não terapêuticos de *Cannabis sativa* L.

Catarina Cabral Gomes

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob orientação de:
Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel

2021

Título | Efeitos terapêuticos e não terapêuticos de *Cannabis sativa* L.

Aluno | Catarina Cabral Gomes

Orientador | Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel

Dissertação de mestrado para a obtenção do grau de mestre em Ciências
Farmacêuticas

Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade do Algarve

Faro, 2021

DECLARAÇÃO DE AUTORIA DE TRABALHO

Efeitos terapêuticos e não terapêuticos de *Cannabis sativa* L.

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Faro, outubro de 2021

Copyright© 2021 Catarina Cabral Gomes

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

À Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel, por ter aceitado ser minha orientadora nesta dissertação e por todo o apoio, conselhos e ajuda prestada na realização da mesma.

A todos os professores do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Algarve, pela sua exigência e empenho em transmitir o seu conhecimento aos alunos, para que estes se tornem excelentes profissionais.

Ao Núcleo de Estudantes de Ciências Farmacêuticas da Universidade do Algarve (NECiFarm) e em especial à Direção do NECiFarm 2020, pela experiência incrível que foi pertencer ao associativismo e pelas capacidades que me fez adquirir aos longos destes anos. Sem dúvida, uma das experiências que mais me marcou pela positiva no meu percurso académico.

Aos meus colegas e amigos que me acompanharam e ajudaram nesta etapa da minha vida e a tornaram ainda mais maravilhosa e inesquecível.

E por último, mas sem menos importância, agradeço à minha família pelo apoio, força e incentivo que me foram dando ao longo deste 5 anos, pois sem eles nada disto era possível.

De coração, a todos eles o meu muito obrigada!

Resumo

A espécie *Cannabis sativa* L., também conhecida por cânhamo-indiano, pertence à família Cannabaceae. Desta planta extraem-se diversos compostos, nomeadamente os canabinóides, sendo estes os responsáveis pela maioria das atividades biológicas desta espécie. Os efeitos biológicos dos canabinóides ocorrem através da ativação de recetores mediados pelo sistema endocanabinóide.

Para além de aplicações terapêuticas, o cânhamo-indiano também é muito usado em indústrias de construção e isolamento e tem vindo a mostrar cada vez mais valor na indústria alimentar e cosmética.

O presente trabalho foca-se nas atividades biológicas dos diversos canabinóides, bem como, nas suas aplicações terapêuticas em algumas patologias tais como, cancro, dor, epilepsia e doenças neurodegenerativas. Para além do mencionado, irá ainda abordar um pouco da história, botânica e métodos de secagem e extração de cânhamo-indiano.

Palavras-chave: *Cannabis sativa* L.; canabinóides; sistema endocanabinóide; doenças neurodegenerativas; cancro; epilepsia

Abstract

The species *Cannabis sativa* L., also known as hemp, belongs to the Cannabaceae family. From this plant extracts various compounds, including cannabinoids, which are responsible for most of the biological activities of this species. The biological effects of cannabinoids occur through the activation of receptors mediated by the endocannabinoid system.

In addition to therapeutic applications, hemp is also widely used in the construction and insulation industries and has been showing increasing value in the food and cosmetics industry.

This work focuses on the biological activities of different cannabinoids, as well as their therapeutic applications in some pathologies such as cancer, pain, epilepsy and neurodegenerative diseases. In addition to the above, it will also cover a little history, botany and methods of drying and extracting hemp.

Key-words: *Cannabis sativa* L; cannabinoids; endocannabinoid system; neurodegenerative diseases; cancer; epilepsy

Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo.....	III
Abstract.....	V
Índice de Figuras	IX
Índice de Tabelas.....	XI
Lista de Abreviaturas.....	XIII
1. Introdução	1
1.1. Um pouco de história sobre a utilização de <i>Cannabis sativa</i> L.	1
1.2. Botânica	4
2. Canabinóides	6
2.1. Secagem e extração de canabinóides	9
2.1.1. Processo de secagem	10
2.1.2. Processo de extração	11
2.2. Biossíntese dos metabolitos.....	12
2.3. Mecanismo de ação dos canabinóides.....	14
2.3.1. Recetores CB1 e CB2.....	14
2.3.2. Sistema Endocanabinóide.....	15
3. Atividades biológicas dos canabinóides	18
3.1. Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)	18
3.2. Canabidiol.....	20
3.3. Canabigerol	21
3.4. Canabinol	22
3.5. Canabidivarina.....	22
4. Aplicações do cânhamo-indiano.....	23
4.1. Utilização de <i>C. sativa</i> na indústria têxtil, alimentar e cosmética	24
4.2. Aplicações terapêuticas de CBD e CBDV em algumas patologias	26

4.2.1.	Ação anti-inflamatória	26
4.2.2.	Doenças neurodegenerativas	28
○	Doença de Alzheimer	28
○	Doença de Parkinson	29
○	Esclerose Múltipla.....	29
4.2.3.	Epilepsia e Transtornos do espectro do autismo (TEA)	30
4.2.4.	Dor	32
4.2.5.	Cancro	33
○	Cancro no cérebro	33
○	Cancro da mama	35
○	Cancro colorretal	37
5.	Perspetivas futuras	38
6.	Referências bibliográficas	39

Índice de Figuras

Figura 1.1- Planta do cânhamo-indiano	4
Figura 1.2 – Tricomas	5
Figura. 2.1- Tipos estruturais dos canabinóides	7
Figura 2.2 – Vias de conversão dos canabinóides.....	8
Figura 2.3 – planta de cânhamo-indiano em processo de secagem lenta	10
Figura 2.4 – Vias da biossíntese dos canabinóides	13
Figura 2.5 – Estrutura química dos endocanabinóides	16
Figura 2.6 – Mecanismos de ação do Sistema endocanabinóide	17
Figura 3.1 – Estrutura química da canabidivarina.....	23
Figura 4.1 – Alguns produtos feitos de cânhamo-indiano	24

Índice de Tabelas

Tabela 2.1 - Compostos identificados na planta de *C. sativa* 6

Tabela 2.2 - Métodos de extração para duas partes da planta: tricomas e sementes.. 11

Lista de Abreviaturas

AEA - anandamida

AO - ácido olivetólico

A β - beta-amilóides extracelulares

CBC – canabicromeno

CBCA - ácido canabicroménico

CBD – canabidiol

CBDA - ácido canabidiólico

CBDV – canabidivarina

CBG – canabigerol

CBGA - ácido canabigerólico

CBGAS - CBGA sintase

CBL – canabicitol

CBLA - ácido canabicitólico

CBN – canabinol

CBNA - ácido canabinólico

CoA - acetil-coenzima A

DA - doença de Alzheimer

DAGL, do inglês *diacylglycerol lipase* - lipase de diacilglicerol

DII - doenças inflamatórias intestinais

DMAPP, do inglês *dimethylallyl diphosphate* - dimetilalil difosfato

DOX - doxorrubicina

DP - doença de Parkinson

EM - esclerose múltipla

FAA4, do inglês *fatty acid amid hydrolase* - amida hidrolase de ácidos gordos

FAAH, do inglês *fatty acid amide hydrolase* - hidrolase da amida de ácido gordo

GABA - ácido γ -aminobutírico

GBM - glioblastoma multiforme

GPCR, do inglês *G-protein-coupled receptor* - recetor acoplado à proteína G periférica

GPP, do inglês *geranyl diphosphate* - geranilo-difosfato

GSC - glioma *stem-like cells*

HCS - hexanoil-CoA sintase

IL – interleucina

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde

iNOS, do inglês *inducible nitric oxide synthase* - monóxido de azoto sintase induzível

IPP, do inglês *isopentenyl diphosphate* - isopentenil difosfato

LPS – lipopoissacarídeo

MAGL, do inglês *monoacylglycerol lipase* - lipase de monoacilglicerol

MAPK, do inglês *mitogen-activated protein kinase* - proteína cinase ativada por mitogénio

MEP, do inglês *methylerythritol 4-phosphate* - metileritritol-4-fosfato

MSCs, do inglês *multipotent mesenchymal stem cells* - células estromais mesenquimais multipotentes

NAPE-PLD, do inglês *N-acyl phosphatidylethanolamine phospholipase D* - N-acetilfosfatidiletanolamina fosfolipase D

NF-κB, do inglês *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* - fator nuclear de células B ativadas

PMNs - do inglês *polymorphonuclear leukocytes* - Leucócitos polimorfonucleares

PKB, do inglês *protein kinase B* – proteína cina B

PI3K - AKT (do inglês *intracellular signal transduction pathway*)- via de sinalização

PPAR-γ, do inglês *peroxisome proliferator-activated receptor-γ* - receptor-γ ativado por proliferador de peroxissoma

p-STAT3, do inglês *phosphorylated-signal transducer and activator of tran- scription 3* - transdutor de sinal fosforilado e ativador da transcrição 3

RE – recetor de estrogénio

ROS, do inglês *reactive oxygen species* - espécies reativas de oxigénio

SAR, do inglês *structure activity relationship* - Relação estrutura atividade

SIDA - síndrome de imunodeficiência adquirida

SNC - sistema nervoso central

SNP - Sistema nervoso Periférico

STAT3, do inglês *signal transducer and activator of transcription 3* – transdutor de sinal e ativador de transcrição 3

TEA - transtornos do espectro do autismo

TNBC, do inglês *triple-negative breast cancer* - cancro de mama triplo-negativo

THC/ Δ -9-THC – Δ -9-tetrahidrocanabinol

THCA - ácido tetra-hidrocanabinólico

TNF- α - fator de necrose tumoral- α

TRPA1, do inglês *transient receptor potential cation channel subfamily A member 1* -
recetores de potencial transitório de canal catiónico subfamília A membro 1

TRPV1, do inglês *transient receptor potential cation channel subfamily V member 1* -
recetores de potencial transitório de canal catiónico subfamília V membro 1

TRPV2, do inglês *transient receptor potential cation channel subfamily V member 2* -
recetores de potencial transitório de canal catiónico subfamília V membro 2

Δ 8-THC - delta-8-tetra-hidrocanabinol

2-AG - 2- araquidonoglicerol

5-HT1A, do inglês *5-hydroxytryptamine receptor 1A* - recetores de hidroxitriptamina 1A

1. Introdução

A espécie *Cannabis sativa* L. (cânhamo-indiano), pertencente à família Cannabaceae,(1) é a droga ilícita mais consumida mundialmente, podendo ser utilizada pelo seu efeito psicotrópico e não só. De acordo com vários estudos, esta espécie tem vindo a demonstrar eficácia no tratamento de várias patologias, tais como o cancro, epilepsia, doenças neurodegenerativas, entre outras.(2) Para além do referido, *C. sativa* apresenta igualmente interesse por parte da indústria têxtil, cosmética e alimentar.(3)

Do cânhamo-indiano obtêm-se os canabinóides, compostos terpeno-fenólicos. Os canabinóides mais produzidos são o canabidiol (CBD) e Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), sendo este o responsável pelo efeito psicotrópico produzido pela planta, quando em concentrações acima de 0,3%. (3) (4)

Tendo origem no Sudeste Asiático e Ásia central, *C. sativa* é uma planta há já muito tempo cultivada. (2) No entanto, por poder provocar efeitos psicotrópicos, a sua utilização em investigação foi durante muito tempo interrompida. Devido ao longo historial de proibição/legalização e controvérsia à volta do cânhamo-indiano, existem falhas no que toca à investigação sobre esta planta.(5) Esta dualidade, ainda muito presente atualmente, faz com que se torne essencial aprofundar ainda mais os conhecimentos sobre as propriedades e aplicações desta espécie.

Esta dissertação pretende fazer uma breve revisão bibliográfica focada nos efeitos terapêuticos de *C. sativa* L. bem como abordar um pouco da história e botânica da planta, e ainda desenvolver e aprofundar o conhecimento relativamente aos metabolitos que são extraídos da mesma.

1.1. Um pouco de história sobre a utilização de *Cannabis sativa* L.

Estima-se que a espécie *Cannabis sativa* L. (cânhamo-indiano) seja usada pelo Homem há cerca de 12.000 anos. Pensa-se que *C. sativa* poderá ter surgido logo após a Idade do Gelo, visto que foram encontrados fios e restos de tecidos de fibra do cânhamo-indiano em cavernas na República Checa e mais tarde, 4000 anos a.C foram descobertos, na China, restos de fibra da espécie. (6)

O cânhamo-indiano apresenta um longo historial por todo o mundo, sendo utilizada como fibra, alimento e óleo, apresentando também utilidade medicinal. Esta espécie, inicialmente, era utilizada como fonte de fibras extraídas do seu caule e usadas para o fabrico de peças de vestuário. (7)

Em 2700 a.C. foi descoberta a primeira evidência de que *C. sativa* apresentava utilidade terapêutica. Esta referência encontra-se presente na farmacopeia mais antiga do mundo (Pen-ts' ao Ching) do Imperador Chinês Sheng-Nung, onde era recomendada a sua utilização para o tratamento da malária, dores reumáticas, ciclos menstruais irregulares e dolorosos e ainda na obstipação. (8) Mais tarde, entre os anos 2000 e 1400 a.C., foram detetados os primeiros efeitos psicoativos do cânhamo-indiano, que se encontravam já relatados na farmacopeia Pen-ts' ao Ching e eram descritos como "visões do demónio" e "comunicações com espíritos".(8)

No entanto, a importância da espécie *C. sativa* na China não atingiu a importância que esta apresentava na Índia.(9) Na Índia, *C. sativa* era utilizada para a redução de febres altas, para induzir o sono, estimular o apetite, aliviar dores de cabeça, para a cura de doenças venéreas e ainda usada para inúmeros rituais religiosos uma vez que era considerada uma das cinco plantas sagradas na Índia. (8) Inclusive, o festival de Holi (Guerra das cores) ainda celebrado anualmente na Índia, surgiu na tentativa de celebrar esta planta, considerada um presente de Deus. Desta forma, durante a festividade, os devotos consomem uma bebida à base de leite e cânhamo-indiano chamada de *Bhang*.(10)

Porém, na Idade Média, o consumo de *C. sativa* foi considerado como ritos de bruxaria por induzir alterações no estado de consciência dos seus consumidores. Mais tarde, esta substância causadora de episódios psicóticos chega à Europa através de invasores citas, originários da Ásia Central. (9)

Em 1839, um médico irlandês que trabalhava ao serviço da armada britânica na Índia, o Dr. W. B. Shaughnessy, introduz pela primeira vez a espécie *C. sativa* na medicina ocidental. A fim de avaliar os efeitos da mesma, desenvolveu testes em animais, com o objetivo de poder avaliar a segurança e efetividade da substância em questão. A partir dos estudos desenvolvidos, o médico irlandês constatou que a substância administrada em doses muito elevadas não era causadora de acidentes fatais. Na altura, a investigação em torno desta planta suscitava grande interesse, de tal modo que o

médico psiquiátrico francês Moreau de Tours, que mais tarde foi considerado o pai da psiquiatria experimental, chegou a testar os efeitos de *C. sativa* em si mesmo, concluindo que a mesma poderia causar complicações no sistema nervoso central. (11)

Em África, o cânhamo-indiano chega por volta do século XV, e era usado como diurético, digestivo, antiflatulento, para dores ligeiras nos ouvidos e ainda para “limpar o cérebro”. Para além das características mencionadas, esta planta era muito usada pelos povos africanos para facilitar os partos. (9)

Já no continente americano, pensa-se que a origem do cânhamo-indiano possa ter surgido primeiramente na América do Sul no século XVI e foi levada para o Brasil através dos escravos vindos de África.(9) Na América do Norte, o Rei Jaime I de Inglaterra, na altura, incentivou que se cultivasse a planta para poder ser utilizada como matéria prima, na produção de cordas e velas para os navios da Armada Real. (11)

Nos anos 20, nos Estados Unidos da América, no tempo da Lei Seca, verificou-se um grande aumento do consumo de *C. sativa*, usada como droga recreativa. Uma vez que, segundo a Lei Seca, o consumo de álcool fora proibido, o consumo do cânhamo-indiano cresceu exponencialmente em substituição de bebidas alcoólicas que tinham, à altura, sido proibidas. Mais tarde, nos anos 30, o consumo de bebidas alcoólicas volta a ser legalizado, enquanto que a utilização do cânhamo, enquanto droga recreativa é proibido. (11) Mais tarde, em 1937, é aprovado o “Marijuana tax Act” que regulamenta a utilização da *C. sativa* para uso medicinal. (12) É nos anos 60 que o consumo de *C. sativa* atinge o seu auge. Nas comunidades “hippie”, esta substância torna-se bastante popular, chegando a sua folha a ser o símbolo representativo desta comunidade. (11)

Porém, em 1971, numa convenção sobre substâncias psicotrópicas das Nações Unidas, o cânhamo-indiano é considerada uma droga ilícita. No entanto, esta interpretação e a forma como está regularizada e legalizada em cada país é bastante controversa e até mesmo antagónica. (11)

Em Portugal, o cânhamo-indiano chega no ano de 1974, tornando-se uma das drogas mais consumidas. (11) Muito recentemente, em 2019, a Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (INFARMED) deliberou a aprovação da utilização de preparações e substâncias à base da planta do cânhamo-indiano para as seguintes indicações terapêuticas: espasticidade associada à esclerose múltipla ou lesões da

espinal medula; náuseas, vômitos (resultante da quimioterapia, radioterapia e terapia combinada de HIV e medicação para hepatite C); estimulação do apetite nos cuidados paliativos de doentes sujeitos a tratamentos oncológicos ou com síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA); dor crónica (associada a doenças oncológicas ou ao sistema nervoso, como por exemplo na dor neuropática causada por lesão de um nervo, dor do membro fantasma, nevralgia do trigémio ou após herpes zoster); síndrome de Gilles de la Tourette, epilepsia e tratamento de transtornos convulsivos graves na infância, tais como as síndromes de Dravet e Lennox-Gastaut e glaucoma resistente à terapêutica. (13)

1.2. Botânica

O cânhamo-indiano pertence à família Cannabaceae e caracteriza-se por ser uma planta dióica e angiospérmica dicotiledonea. (14) Da espécie *C. sativa* obtêm-se compostos terpeno-fenólicos designados de canabinóides. A planta fêmea (Figura 1.1) apresenta uma maior quantidade de canabinóides e tem um tempo de vida mais longo do que a planta macho, uma vez que só morre após o amadurecimento das sementes. Já a planta do cânhamo-indiano macho (Figura 1.1) caracteriza-se por ter uma menor concentração de canabinóides e um tempo de vida mais curto, isto porque morre logo a seguir à libertação do pólen. (15)



Figura 1.1- Planta do cânhamo-indiano macho (à esquerda) e planta fêmea (à direita). Adaptado de: (16)

As folhas da planta do cânhamo-indiano são imparipinadas e são compostas por 5 a 7 folíolos. A distinção entre plantas macho e fêmea apenas se consegue fazer quando estas começam a florescer. (17) A flor feminina tem apenas pistilos, conhecidos como flores com pistilo (ou flores femininas), e aquelas com apenas estames são chamadas de estaminadas (ou flores masculinas). A planta macho não tem, portanto, pétalas e tem cinco anteras, onde é produzido o pólen. Quanto à planta fêmea, esta apresenta uma única ovulação e é enriquecida com os tricomas, onde estão localizados os canabinóides. (16) Estes são encontrados em abundância nas brácteas das plantas fêmeas, mas também se encontram em outras partes da planta (folhas e caule). (1) Existem três tipos de tricomas: tricoma capitado de pedículo longo, tricoma capitado de pedículo curto e tricomas bolbosos (Figura 1.2). Os primeiros são os que apresentam um maior teor de THC. (18)

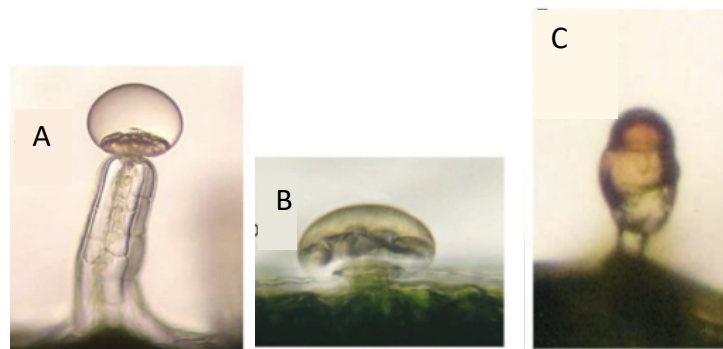


Figura 1.2 – (A) tricoma capitado de pedículo longo; (B) tricoma capitado de pedículo curto e (C) tricomas bolbosos
Adaptado de: (1)

A planta do cânhamo-indiano pode ser cultivada em zonas de clima quente e temperado, podendo crescer até 3 metros de altura, dependendo das condições do meio onde é cultivada. (16) No entanto, quando na presença do seu habitat natural pode chegar a crescer 10 cm por dia, chegando aos 6 metros de altura. (4)

2. Canabinóides

Atualmente há evidência de que na planta de cânhamo-indiano é possível encontrar pelo menos 538 compostos, sendo conhecida por ser uma das plantas mais bem estudadas. (19) As classes dos compostos mais importantes encontram-se listadas na Tabela 2.1. Estes compostos encontram-se nas secreções das células dos tricomas distribuídos pela superfície da planta. Embora os tricomas possam ser encontrados em todas as plantas masculinas e femininas, estes estão particularmente concentrados nas brácteas que sustentam a inflorescência feminina. (20)

Tabela 2.1 - Compostos identificados na planta de *C. sativa*. Adaptado de: (20)

Classe do composto	Compostos identificados
Terpenóides	>120
Canabinóides	>70
Hidrocarbonetos	50
Heterósidos	34
Composto nitrogenados	27
Fenóis não canabinóides	25
Flavonóides	23
Ácidos gordos	22
Ácidos orgânicos simples	21
Aminoácidos	18
Cetonas simples	13
Esteres simples e lactonas	13
Aldeídos simples	12
Proteínas, glicoproteínas e enzimas	11
Esteróides	11
Minerais	9
Álcoois simples	7
Pigmentos	2
Vitamina k	1

Os canabinóides são considerados os principais constituintes biologicamente ativos da planta cânhamo-indiano, principalmente o THC. Sabe-se que o primeiro canabinóide a ser isolado foi no ano de 1940. Através da análise química do composto isolado, constatou-se de que se tratava de um álcool, daí ter surgido o nome bastante simples de canabinol (CBN) ($C_{12}H_{26}O_2$). Para além disso, este composto foi considerado inativo como composto psicoativo. Nesta altura, pôde ainda concluir-se que os canabinóides podem ser organizados em 10 tipos estruturais diferentes (Figura 2.1).(20)

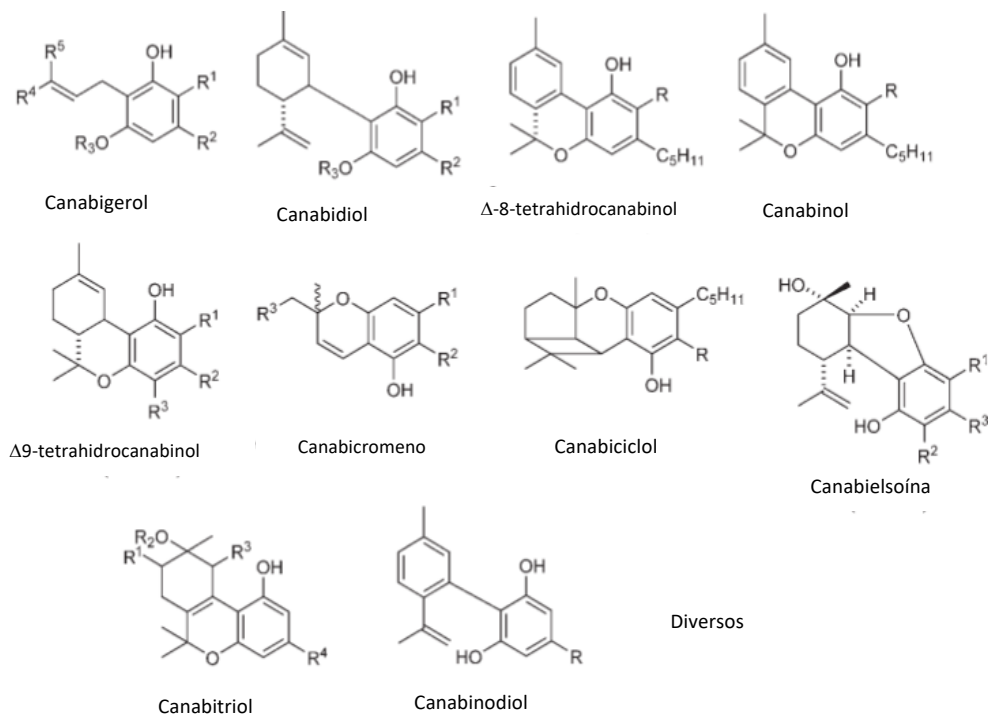


Figura. 2.1- Tipos estruturais dos canabinóides. Adaptado de: (20)

O termo “canabinóide” representa todo o conjunto de ligandos endógenos, naturais e sintéticos dos recetores de canabinóides, pertencentes a uma ampla variedade de famílias químicas. Os canabinóides que derivam da planta são atualmente designados de fitocanabinóides, no entanto deve-se enfatizar que nem todos os fitocanabinóides se ligam aos recetores de canabinóides. (21) (22)

Quimicamente, os canabinóides são compostos terpenofenólicos, portanto, de biossíntese mista, isto é, resultantes de várias vias biossintéticas. Como referido anteriormente, estes metabolitos acumulam-se nos tricomas, onde normalmente constituem mais de 80% da secreção subcuticular. Em geral, todas as partes da planta podem conter canabinóides, exceto as sementes. (22)

Os estudos indicam que o cânhamo-indiano cultivada ao ar livre geralmente apresenta níveis mais baixos de canabinóides em comparação com as plantas cultivadas em ambientes interiores. Quando cultivadas em condições artificiais de alto rendimento, das partes da flor pode ser obtida um teor de resina de até 25-30%, consistindo principalmente por ácido tetra-hidrocanabinólico (THCA), o precursor ácido do THC. (23)

Por sua vez, a oxidação do THCA está relacionada com a formação do ácido canabinólico (CBNA), que continua a ser produzido depois da colheita e os seus elevados níveis podem estar relacionadas com as condições de armazenamento. (23)

Os canabinóides são armazenados na cavidade secretora não celular dos tricomas glandulares. No entanto, após a confirmação da presença do precursor central ácido canabigerólico (CBGA), bem como da atividade da THC sintase na referida cavidade, foi sugerido que este não é apenas o local de acumulação de canabinóides, mas também o local da sua biossíntese.(24)

De acordo com a análise fitoquímica dos canabinóides, estes podem ser convenientemente divididos em três grupos: canabinóides ácidos; canabinóides neutros; e "artefatos". Esta classificação prática dos canabinóides é apresentada na Figura 2.2. (25)

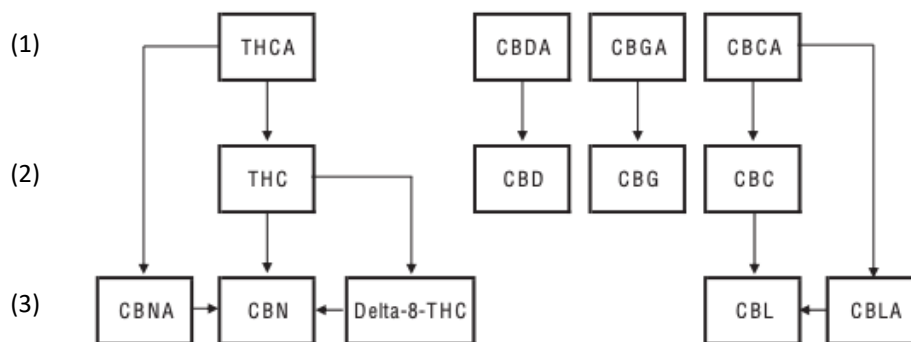


Figura 2.2 – Vias de conversão dos canabinóides (THCA, ácido tetra-hidrocanabinólico; CBDA, ácido canabidiólico; CBGA, ácido canabigerólico; CBCA, ácido canabicroménico; THC, Δ^9 – tetrahydrocanabinol; CBD, canabidiol; CBG, canabigerol; CBC, canabicromeno; CBNA, ácido canabinólico; CBN, canabinol; Delta-8-THC, delta-8-tetra-hidrocanabinol; CBL, canabiciclol; CBLA, ácido canabiciclólico; (1)- Canabinóides produzidos através da biossíntese da planta; (2) – Canabinóides resultantes da descarboxilação natural dos canabinóides ácidos; (3) – Produtos obtidos após a degradação a partir de fatores externos (ex: radiação UV, descarboxilação)). Adaptado de: (25)

O grupo dos canabinóides ácidos inclui um grande número de estruturas. Os tipos mais comuns de canabinóides ácidos encontrados numa planta típica de cânhamo-indiano são THCA, ácido canabidiólico (CBDA), CBGA e ácido canabicroménico (CBCA). Esses ácidos podem ser convertidos, por descarboxilação, e formar THC, CBD, canabigerol (CBG) e canabicromeno (CBC). (26)

Estudos indicam que os canabinóides CBGA e THCA podem induzir a morte celular por apoptose em algumas células vegetais, bem como em células de insetos. Todavia,

pensa-se que a formação de THCA possa estar relacionada à formação de peróxido de hidrogénio, o que indica que poderá ser uma forma de autodefesa da planta. (27)

O grupo de canabinóides que é resultado de condições degradativas merece particular atenção, uma vez que a sua presença é, em grande parte, o resultado de condições variáveis e imprevisíveis durante todos os estágios de cultivo, colheita, processamento, armazenamento e uso. Por este motivo, uma preparação de cânhamo-indiano pré-definida pode mudar rapidamente num produto com efeitos biológicos significativamente diferentes. (26)

O THC em si não se forma a partir do metabolismo da planta de cânhamo-indiano, mas sim a partir da descarboxilação térmica (perda de CO₂) do THCA, presente na planta. Por sua vez, a degradação adicional do THC resulta na formação de CBN ou delta-8-tetra-hidrocanabinol (Δ^8 -THC). (20) Já o THCA pode ainda degradar-se e transformar-se em CBNA. Principalmente, no caso de amostras que foram armazenadas durante um período prolongado, o CBN pode ser encontrado em quantidades relativamente grandes. (26)

Os canabinóides canabiciolol (CBL) e ácido canabiciólico (CBLA) surgem pela exposição do CBC e CBCA, respetivamente, à radiação ultravioleta, levando à reticulação de duas ligações duplas na molécula. Embora seja conhecida uma grande variedade de canabinóides, isso não significa que todos os canabinóides sejam detetáveis em todos os produtos. (25)

2.1. Secagem e extração de canabinóides

Uma vez que os canabinóides naturalmente presentes na planta cânhamo-indiano são nas suas formas ácidas, torna-se essencial transformá-las nas suas formas neutras, uma vez que são estas que aparentemente apresentam ação terapêutica. Para que tal aconteça é necessário que haja um processo de secagem e extração destes metabolitos. (28)

2.1.1. Processo de secagem

A secagem de *C. sativa* tem evoluído ao longo dos anos mais como arte do que propriamente uma tecnologia, provavelmente devido ao facto de se considerar ilegal em alguns países. O método de extração mais utilizado é “secagem lenta”. Neste método, a planta é colocada pendurada ao contrário, tal como mostra a Figura 2.3. (1)



Figura 2.3 – Ilustração da planta de cânhamo-indiano em processo de secagem lenta. Adaptado de: (1)

Desta forma, a água presente no caule vai descendo lentamente para os botões florais da planta e acaba por evaporar, o que diminui o tempo da secagem. Uma variante da “secagem lenta” é conhecida de “secagem na gaiola” que consiste em pendurar os botões da planta dentro de gaiolas em vez de fios estáticos. Este último método permite que se mova as gaiolas para perto de desumidificadores ou aquecedores dentro de uma sala seca. A temperatura média de secagem que deve ter a sala onde decorre este processo deve ser entre 18 a 21°C e a humidade entre 50-55%. Nestas condições, o tempo médio para a secagem da planta é cerca de 5-6 dias. Atualmente não existe nenhum modelo que indique o ponto final de secagem ou até mesmo da secagem geral da planta. No entanto, a maioria dos produtores prevê que a secagem se baseie na textura e na crocância do botão floral. (29)

Outro método comum de secagem é designado de “secagem de tela”. Neste método, as flores são aparadas, ou seja, remove-se tanto as folhas longas presentes na zona de florescência bem como os botões presentes no caule. A flor já aparada tem, geralmente, o comprimento médio de 10-15 cm e os botões cerca de 2 cm. Os botões aparados são então postos nas telas/bandejas e secam em salas de secagem bem ventiladas. As condições de secagem são muito semelhantes às do método de “secagem

lenta” exceto no tempo de secagem que é cerca de 4-5 dias. No entanto, com este método os botões aparados têm uma maior superfície disponível para a secagem, o que implica menos tempo de secagem em comparação com o primeiro método. (29) No entanto, apesar destes métodos serem eficientes requerem bastante tempo, o que para a indústria é um problema e por este motivo estão a ser desenvolvidas tecnologias de secagem que visam ser mais eficientes do que os métodos tradicionais. (1)

2.1.2. Processo de extração

A nível industrial, após a secagem da planta, esta é moída através de moinhos específicos para a ação. Após a moagem, o pó é colocado em sacos selados e armazenados dentro de salas com temperatura controlada. De seguida, segue-se o processo de extração, onde a escolha do método de extração mais viável vai depender do que se pretende extrair da planta (Tabela 2.2). (30)

Tabela 2.2 - Métodos de extração para duas partes da planta: tricomas e sementes (ESO, extração do solvente orgânico; EFS, extração de fluido supercrítico). Adaptado de: (30)

	Tricomas	Sementes
Químicos alvo	Canabinóides e terpenos	Ácidos gordos
Localização na planta	Botões das flores femininas antes da polinização	Semente
Solvente utilizado	Maioritariamente solventes polares	Solventes polares e apolares
Métodos de extração	ESO; EFS; Soxhlet (para pequena escala apenas)	Prensa fria; expulsor de parafuso seguido de ESO; EFS; Soxhlet (para pequena escala apenas)
Co-extratos	Ceras, pigmentos, etc	Óleos desengordurados; borra de óleo, etc

Um dos métodos mais utilizados, para além da extração por solvente orgânico, é o método de extração Soxhlet. Este método é muito eficiente para extração de óleos uma vez que opera com base num ciclo contínuo de solvente e deixa os extratos na câmara de extração e entra em contacto com a biomassa no processo em contínuo. Com este aparelho expõe-se a biomassa a um novo fluxo de solvente orgânico ao longo de toda a operação. Este método apresenta a força motriz de extração mais forte entre todos os métodos de extração, ou seja, é considerado o método de referência. (30)

Outro método de extração utilizado é a extração de fluido supercrítico. Muitos são os fluidos que se podem utilizar, nomeadamente eteno, água, metanol, entre outros mas o mais utilizado neste tipo de extração é o dióxido de carbono supercrítico. A natureza não polar dos canabinóides neutros faz com que seja possível a utilização deste método. Neste processo, o pó é colocado numa cesta com placas de extremidade de aço, onde ficam sujeitos a pressões muito elevadas de CO₂ e temperatura controlada. Neste método, o CO₂ é manipulado para entrar num estado supercrítico. Com características tanto de gás como de um líquido, este é bombeado pela matéria vegetal em estado bruto sob condições controladas, retirando assim os terpenos e canabinóides essenciais sem os danificar. (28) O processo de extração com CO₂ supercrítico, além de apresentar rendimentos eficientes e ser ecológica, permite a extração de metabolitos limpos e seguros. (28)

2.2. Biossíntese dos metabolitos

A biossíntese dos canabinóides pode partir de duas vias metabólicas distintas: a via do poliacetato que leva à produção do ácido olivetólico (AO) e a via metileritritol-4-fosfato (MEP, do inglês *methylerythritol 4-phosphate*), produzindo geranilo-difosfato (GPP, do inglês *geranyl diphosphate*). (31)

A biossíntese de canabinóides é complexa e apresenta várias etapas e interações enzimáticas como se verifica a partir da Figura 2.4. A síntese do AO é considerada específica para a *C. sativa* e começa com o ácido hexanóico, que se pensa ser sintetizado a partir de acetil-coenzima A (CoA) e por 5 moléculas de malonil-CoA. Desta forma, o ácido hexanóico é convertido em hexanoil-CoA catalisado por hexanoil-CoA sintase (HCS). (31) (32)

O GPP é um precursor molecular presente em diversas vias metabólicas e é produzido através da condensação de isopentenil difosfato (IPP, do inglês *isopentenyl diphosphate*) e do dimetilalil difosfato (DMAPP, do inglês *dimethylallyl diphosphate*). (33)

O CBGA é sintetizado a partir do AO e do GPP catalisado pela prenilltransferase aromática CBGA sintase (CBGAS), por C-prenilação do OA (Figura 2.4). O CBGA é, portanto, um precursor central da biossíntese dos canabinóides, uma vez que vai dar

origem ao THCA, CBDA e CBCA. (34). É a partir destes compostos que, sofrendo um processo de descarboxilação, se obtém CBC, CBG, THC e CBD.

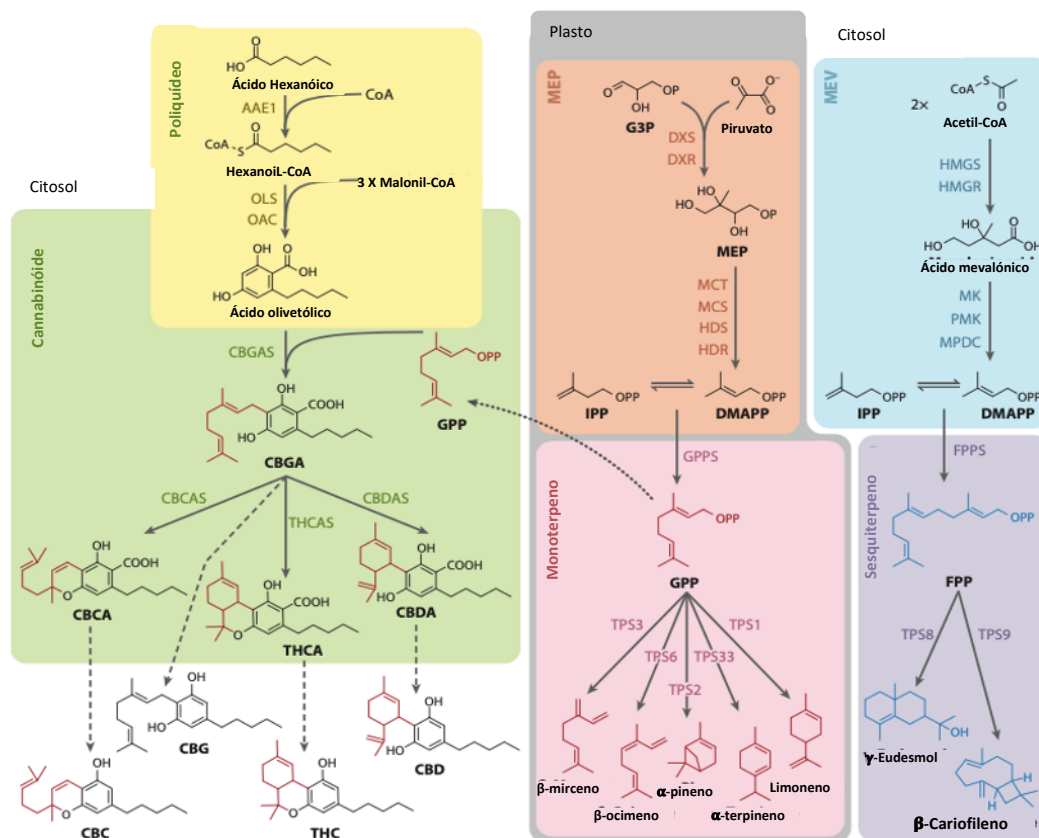


Figura 2.4 – Vias da biossíntese dos canabinóides (THCA, ácido tetra-hidrocanabinólico; CBDA, ácido canabidiólico; CBGA, ácido canabigerólico; CBCA, ácido canabicroménico; THC, Δ^9 – tetrahydrocannabinol; CBD, canabidiol; CBG, canabigerol; CBC, canabicromeno; MEP, via metileritritol-4-fosfato; GPP, geranilo-difosfato; IPP, isopentenildifosfato; DMAPP, dimetilalildifosfato; CBGA, ácido canabigerólico sintase; TCHCAS, ácido tetra-hidrocanabinólico sintase; CBDAS, ácido canabidiólico sintase; CBCAS, ácido canabicroménico sintase; GPPS, geranilo-difosfato sintase; AAE1, enzima ativadora de acila; OLS, olivetol sintase; OAC, ácido olivetólico ciclase; G3P, gliceraldeído 3-fosfato; DXS, deoxixilulose fosfato sintase; DXR, fosfato de deoxixilulose redutoisomerase; MCT, metileritritol fosfato citidililtransferase; MCS, metileritritol ciclodifosfato sintase; HDS, hidroximetilbutenil difosfato sintase; HDR, hidroximetilbutenil difosfato redutase; TPS, terpeno sintase; MEV, mevalonato; HMGS, hidroximetilglutaril-CoA sintase; HMGR, hidroximetilglutaril-CoA redutase; MK, mevalonato quinase; PMK, fosfomevalonato quinase; MPDC, mevalonato difosfato descarboxilase; FPP, farnesil pirofosfato sintase). Adaptado de: (35)

A Figura 2.4 representa as vias da biossíntese de canabinóides. Cada cor destaca uma via diferente, o que está marcado a cinzento significa que essa vias se processam nos plastos das células, as restantes vias ocorrem no citosol. Para haver uma correta distinção, os nomes das enzimas envolvidas nestas vias estão escritos a cores enquanto que os nomes dos compostos encontram-se a preto. As estruturas marcadas a vermelho representam a parte da estrutura que derivou do GPP.(35)

2.3.Mecanismo de ação dos canabinóides

Os efeitos biológicos dos canabinóides ocorrem através da ativação de recetores, através da sua ligação a lugares específicos. Os análogos do THC, quimicamente modificados e radiomarcados, serviram como ferramenta para a identificação do recetor canabinóide 1 (CB1) no cérebro de ratos e, mais tarde, a descoberta do recetor CB2. (36) Estas descobertas levaram à busca de ligandos endógenos, que foi guiada pelo conceito químico de que, por homologia ao THC altamente lipofílico, ligandos de recetores canabinóides fisiológicos deveriam ser procurados entre lípidos endógenos.(36)

Atualmente, sabe-se que os recetores canabinóides podem ser encontrados na maior parte do cérebro, bem como no sistema imunológico e ainda noutros órgãos.(37)

2.3.1. Recetores CB1 e CB2

Os ligandos dos recetores dos canabinóides são conhecidos como canabinóides ou endocanabinóides, dependendo se provêm de fontes externas ou fontes internas (endógenas). (38)

Devido ao seu caráter lipofílico, os canabinóides conseguem penetrar as membranas celulares por difusão simples. No entanto, foi estabelecido em meados da década de 1980 que a atividade canabinóide é altamente estereoseletiva, providenciando a existência de um mecanismo mediado por recetores acoplados à proteína G. (39) (40)

O recetor CB1, também designado de "recetor de ligação a canabinóide tipo 1", está mais claramente localizado no sistema nervoso central (SNC), portanto, é muitas vezes chamado de "recetor central", mas também é encontrado em certos órgãos e tecidos, como pulmões, fígado e rins. Acredita-se que os recetores CB1 sejam os recetores acoplados à proteína G mais amplamente expressos no cérebro. Quando este recetor é ativado atua na inibição dos canais de cálcio dependentes de voltagem na membrana pré-sináptica dos neurónios excitatórios e inibitórios. Assim resulta no bloqueio da libertação de neurotransmissores (principalmente glutamato e ácido γ -aminobutírico (GABA)) na fenda sináptica, inibindo desta forma a neurotransmissão. Por

outro lado, há estudos que indicam que a ativação dos CB1 nas membranas das células dos astrócitos promove a liberação de glutamato, favorecendo a gliotransmissão. (40)

Mais tarde, um segundo recetor canabinóide (CB2) foi encontrado com um possível papel em processos imunológicos. (41) O recetor CB2 foi descrito como um recetor acoplado à proteína G periférica (GPCR, do inglês *G-protein-coupled receptor*), localizado principalmente no sistema nervoso periférico (SNP), portanto, é frequentemente chamado de "recetor periférico". É expresso principalmente por tecidos do sistema imunitário, como leucócitos, baço e amígdalas, e apresenta uma seletividade diferente do CB1 de ação central. (42) Há evidência de que o CB2 pode desempenhar um papel funcionalmente relevante no SNC, mediado por células microgliais. Os efeitos de ativação ainda são pouco compreendidos mas os estudos sugerem que a expressão deste recetor é reduzida em situações fisiológicas mas aumentada em condições patológicas, desempenhando um papel protetor. (43)

2.3.2. Sistema Endocanabinóide

O sistema endocanabinoide é conhecido por ser um sistema neuromodulador onnipresente com uma ampla área de ações. Este sistema é composto por recetores canabinóides, canabinóides endógenos e enzimas responsáveis pela sua produção, transporte e degradação. (20)

O sistema endocanabinóide pode ser encontrado até mesmo em organismos muito primitivos, atendendo que tem um papel fundamental na fisiologia básica. Existem atualmente duas famílias principais de endocanabinóides que foram amplamente caracterizadas. Os primeiros são amidas de ácido araquidónico e etanolamida; o típico exemplo dessa família é a anandamida ou *N*-araquidonoiletanolamina (AEA) (Figura 2.5). A segunda família inclui ésteres de glicerol relacionados com 2- araquidonoglicerol (2-AG) (Figura 2.5). (44) Estes dois endocanabinóides ligam-se aos recetores CB1 e CB2 no SNC e no SNP. (44)

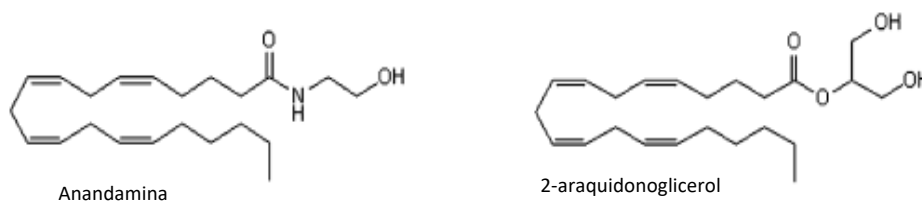


Figura 2.5 – Estrutura química dos endocanabinóides. Adaptado de: (44)

Os endocanabinóides localizam-se intracelularmente, e atuam como precursores na membrana plasmática de alguns neurónios, como parte de certos fosfolipídios. Estes são produzidos a partir da ativação de diversas vias envolvendo fosfolipases C e D, bem como outras enzimas. A enzima envolvida na produção de AEA é a N-acetilfosfatidiletanolamina fosfolipase D (NAPE-PLD, do inglês *N-acyl phosphatidylethanolamine phospholipase D*) e na de 2-AG é a lipase de diacilglicerol (DAGL). (44)

A produção de endocanabinóides vem em resposta a um aumento das concentrações de cálcio intracelular que seguem a despolarização celular ou a mobilização da concentração de cálcio intracelular subsequentes à estimulação de recetores acoplados à proteína G. Consequentemente, as enzimas que catalisam a AEA e o 2-AG são sensíveis ao cálcio. Depois da sua formação, os endocanabinóides são transportados através da membrana celular para os seus locais de ligação extracelular nos recetores canabinóides. (45)

Os endocanabinóides são descritos como transmissores retrógrados porque mais commumente viajam contra o fluxo normal do transmissor sináptico: eles são libertados do neurónio pós-sináptico e atuam no neurónio pré-sináptico, onde os recetores-alvo estão densamente concentrados. Desta forma, os endocanabinóides normalmente não funcionam como hormonas, que podem afetar as células de todo o corpo, mas, em vez disso, atuam como mediadores locais. Ou seja, os endocanabinóides produzidos por um determinado neurónio são moduladores do fluxo de outros neurotransmissores produzidos por esse mesmo neurónio. (20)

A degradação é um mecanismo importante para regular a atividade dos endocanabinóides, uma vez que a duração do efeito dos endocanabinóides depende da

localização das enzimas que degradam os endocanabinóides. O sistema de degradação envolve recaptção na célula pré-sináptica, seguida por uma rápida hidrólise das ligações amida ou éster. As enzimas responsáveis pela degradação de AEA e 2-AG são a amida hidrolase de ácidos gordos (FAAH, do inglês *fatty acid amide hydrolase*) e a lipase de monoacilglicerol (MAGL, do inglês *monoacylglycerol lipase*), respetivamente. (46)

A AEA atua como agonista parcial do CB1 e CB2, enquanto que o 2-AG é um agonista completo dos CB1 e CB2, principalmente do CB1, isto é, o 2-AG exibe maior seletividade e eficácia para os recetores CB1 e CB2 do que a AEA, que também interage com alvos de recetores não canabinóides. (47)

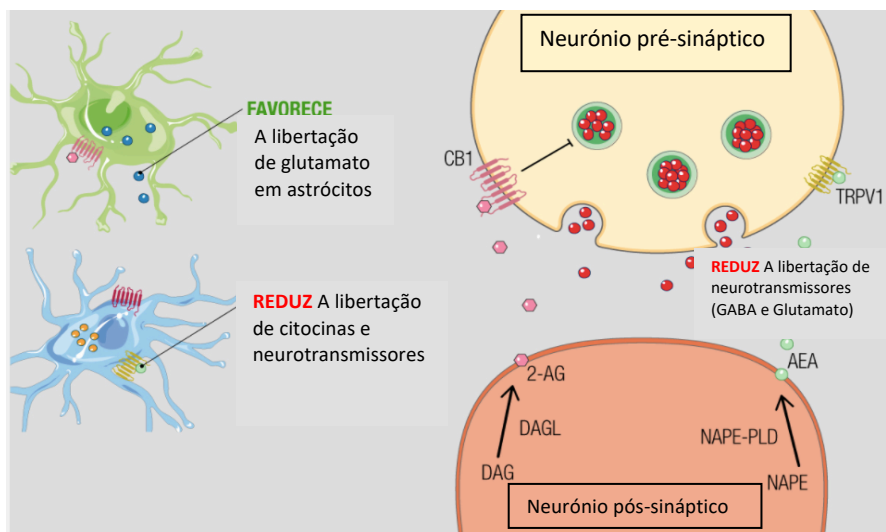


Figura 2.6 – Mecanismos de ação do Sistema endocanabinoide (TRPV1, recetores valinóides de potencial transitório 1; 2-AG, 2- araquidonoglicerol ; DAGL, lípase de diacilglicerol; DAG, diacilglicerol; NAPE-PLD, N-acisfosfatidiletanolamina fosfolipase D; NAPE, , N-acisfosfatidiletanolamina). Adaptado de: <https://activepharmaceutica.com.br/blog/o-que-e-o-sistema-endocanabinoide-e-como-ele-atua-em-nosso-organismo>, último acesso a 18/10/2021

Para além da interação entre endocanabinóides e recetores CB1 e CB2, estudos indicam que outros recetores e mediadores podem estar envolvidos nas vias de sinalização do sistema endocanabinoide (Figura 2.6). Por exemplo, a AEA também pode atuar como agonista completo dos recetores de potencial transitório de canal catiónico subfamília V membro 1 (TRPV1, do inglês *transient receptor potential cation channel subfamily V member 1*). Este recetor é amplamente expresso em neurónios periféricos e está envolvido na regulação da transcrição sináptica associada à modulação e inflamação. (47)

3. Atividades biológicas dos canabinóides

A grande maioria dos estudos que demonstram evidência acerca das atividades biológicas dos canabinóides foram realizados com canabinóides neutros. No entanto, deve ser enfatizado que a maioria dos canabinóides neutros discutidos neste capítulo não são biossintetizados naturalmente pela própria planta, tendo que sofrer processos naturais de descarboxilação. Como tal, a partir da biossíntese do cânhamo-indiano são formados canabinóides ácidos (ácidos carboxílicos), o que posteriormente vão dar origem aos canabinóides neutros mediante processos de alteração das condições ambientais (exemplo: aquecimento, armazenamento prolongado). Todavia, é importante realçar que os canabinóides ácidos também apresentam atividade biológica própria e por este motivo não devem ser interpretados apenas como precursores dos canabinóides neutros e ativos. (20)

Neste capítulo irão ser abordadas as principais atividades biológicas dos seguintes canabinóides: delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC); canabidiol; canabigerol; canabinol e canabidivarina. Os canabinóides mencionados foram os que apresentaram maior evidência de atividades biológicas.

3.1. Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC)

O Δ 9-THC ou THC é o constituinte farmacológica e toxicologicamente mais relevante encontrado no cânhamo-indiano, podendo provocar uma série de efeitos em animais e humanos. Por norma, com o objetivo de se caracterizar os efeitos biológicos do THC faz-se a distinção entre efeitos centrais e periféricos, refletindo a distribuição fisiológica dos recetores de ligação a canabinóides CB1 e CB2. (48)

Porém, os efeitos centrais mediados pelo CB1 destacam-se, uma vez que estão diretamente relacionados aos efeitos psicológicos provocados pelo consumo de *C. sativa* em humanos. Estes efeitos podem ser divididos em quatro grupos: afetivo, sensorial, somático e cognitivo. Na verdade, a maioria dos efeitos dos canabinóides documentados são mediados pelo CB1. Desta forma, os efeitos comportamentais causados pelo cânhamo-indiano ou especialmente o THC, são geralmente consistentes com a distribuição anatômica do CB1, em particular no cérebro. No entanto, as

propriedades neuroprotetoras na isquemia e hipóxia são exemplos de algumas ações conhecidas do THC e de outros canabinóides, independentes do recetor. (49)

O THC apresenta também efeitos terapêuticos em doentes com cancro nomeadamente durante a quimioterapia, atuando na inibição da náusea e vômito. Neste sentido, a administração da *C. sativa* ingerida ou inalada tem demonstrado reduzir a náusea na maioria dos doentes oncológicos que a utilizaram para este efeito, tendo sido comprovado através de ensaios clínicos. (50)

Para além destes efeitos, o THC apresenta também atividade biológica na estimulação do apetite e inibição da dor. Verifica-se um aumento da taxa metabólica no cérebro, com a administração de THC a animais e humanos e o mesmo atua na diminuição da temperatura corporal, mas apenas em doses mais elevadas. O aumento da frequência cardíaca observado após a administração de THC é claramente dependente da dose administrada e está associada às concentrações plasmáticas de THC no sangue. Em consequência da administração desta substância, eventualmente poderão surgir problemas cardiovasculares, sendo esta uma contra-indicação para o uso terapêutico do cânhamo-indiano. Os resultados de um ensaio clínico onde é administrado THC inalado, sugere que o aumento da frequência cardíaca não é mediado pelos centros do tronco cerebral, mas é estabelecido por um efeito direto do THC no coração. (51)

No mesmo estudo, foram monitorizados os efeitos no SNC, após a administração de THC. Este apresentou efeitos dependendo da dose administrada e concentração no sangue, na estabilidade da postura corporal e balanço do corpo. Estes resultados podem ser explicados pela presença de uma elevada densidade de recetores CB1 encontrados nos gânglios da base, no cerebelo, na amígdala e prosencéfalo. (51)

Em contrapartida, o THC pode também induzir efeitos desagradáveis, incluindo ansiedade, pânico e paranoia. Há evidência de que, em alguns casos, o THC é capaz de provocar eventos psicóticos, nomeadamente delírios e alucinações. Para que tal aconteça é necessário a administração de doses muito elevadas de THC e o seu uso prolongado ou mesmo uma predisposição genética preexistente. (52)

Para além do mencionado anteriormente, há evidência de que o THC diminui a pressão intraocular e melhora a circulação sanguínea no olho, atuando na proteção da

retina e do nervo ótico. Alguns estudos mostram que o THC e outros canabinóides podem atuar no tratamento do glaucoma, a principal causa de cegueira irreversível.(53)

Os efeitos anticonvulsivantes foram descritos para canabinóides psicotrópicos e não psicotrópicos, incluindo THC, CBD, CBN e Δ^8 -THC. O THC atua no relaxamento muscular e tem efeitos hipocinéticos e anticonvulsivantes. Esta é uma das principais razões pelas quais o THC é estudado como um tratamento para a esclerose múltipla e também pode ter importância na epilepsia. (54)

Os recetores do tipo CB2 estão presentes nos leucócitos e afetam o sistema imunológico e este pode ser o motivo pela qual *C. sativa* é frequentemente utilizada por indivíduos imunocomprometidos. O THC é considerado um imunomodulador, capaz de aumentar ou suprimir a função de uma série de células do sistema imunológico. Esses efeitos podem ser modulados por outros constituintes presentes no cânhamo-indiano. (55)

Para além das atividades biológicas do THC apresentadas anteriormente, sabe-se que o THC relaxa o cólon e reduz sua motilidade após as refeições, evidenciando o potencial dos recetores CB para modular a função motora do cólon em doenças intestinais, como a síndrome do intestino irritável ou doença de Crohn. (56)

3.2. Canabidiol

O CBD é, bem como o CBG, o principal canabinóide não psicotrópico encontrado no cânhamo-indiano e é o principal canabinóide presente em *C. sativa* (na forma de ácido carboxílico CBDA). (57) O CBD apresenta efeitos anti-inflamatórios, analgésicos, neuroprotetores, sedativos, hipnóticos, anti-epilépticos e ansiolíticos. Estes últimos mediados por uma ação nas áreas límbicas e paralímbicas do cérebro, onde ocorre a redução do fluxo sanguíneo cerebral regional. Estas propriedades ansiolíticas são úteis em psiquiatria. Além disso, descobriu-se que o CBD tem benefícios antipsicóticos. (58)

O CBD tem, também, um efeito proeminente em oncologia, na medida em que é capaz de reduzir a agressividade de evolução das células cancerígenas, num estudo realizado com cancro de mama, inibindo uma proteína crucial para o desenvolvimento do cancro. O CBD é, portanto, o primeiro agente exógeno não tóxico que pode inibir significativamente a proliferação de células cancerígenas no cancro da mama, levando à regulação negativa da agressividade do tumor, oferecendo a esperança de uma terapia

não tóxica que possa alcançar resultados significativos sem nenhum dos efeitos colaterais dolorosos associado à terapia padrão. (59)

Este efeito antiproliferativo do CBD mostrou estar correlacionado à indução de apoptose, o que sugere uma possível aplicação do CBD como agente antineoplásico. Os efeitos foram parcialmente evitados por um antagonista do recetor CB2 (não psicoativo).(60)

Num estudo sobre o impacto do CBD na recuperação física em atletas de competição, verificou-se que este composto é promissor e tem potencial para aumentar a eficiência do processo de recuperação durante o exercício e diminuir o cansaço pós-treino, devido às suas propriedades analgésicas, anti-inflamatórias e ansiolíticas. (61)

No que diz respeito aos efeitos adversos do CBD, um estudo indica que este composto é bastante bem tolerado e apresenta relativamente poucos efeitos adversos, sendo o principal a diarreia. Porém, verificou-se também neste estudo, que o CBD tem a capacidade de inibir o metabolismo hepático de outros medicamentos (ex. valproato de sódio e clobazam) quando tomados em concomitância. Isto faz com sejam necessários mais estudos, principalmente na aplicação do CBD em casos de epilepsia. (62)

3.3.Canabigerol

O CBG, comparado ao THC, é considerado de “inativo”, mas tem uma afinidade para os recetores CB1 ligeiramente superior, aproximadamente igual ao do CBD. (20)

O CBG tem mostrado relevantes efeitos antibacterianos. Num estudo com ratos infetados com a bactéria *Staphylococcus aureus*, o CBG mostrou ser tão eficiente na redução de proliferação de colónias bacterianas quanto o antibiótico vancomicina, e mostrou melhores resultados que outros antibióticos tais como a tetraciclina, eritromicina e oxaciclina. (63)

O CBG tem também demonstrado ser promissor no que toca à terapêutica de doenças gastrointestinais, nomeadamente a colite. Num estudo com ratos onde foi induzida colite, estudou-se a ação anti-inflamatória do CBG e verificou-se que a administração oral reduz a inflamação intestinal. (64)

Num estudo realizado *in vivo*, o CBG foi avaliado quanto à eficácia antitumoral contra células de melanoma de pele de murganho e demonstrou uma atividade significativa. Dos vários canabinóides testados neste estudo, o CBG apresentou a potência mais forte para inibir a agregação plaquetária. (65)

3.4.Canabinol

Em 1940, o CBN foi o primeiro canabinóide a ser isolado e purificado de *C. sativa*. Embora CBN não seja produzido pelo metabolismo da planta, é facilmente formado a partir do THC por degradação durante a secagem, armazenamento e consumo (aquecimento). É um canabinóide psicotrópico muito fraco, cujo efeito é apenas mensurável após administração intravenosa. O CBN possui atividades anticonvulsivantes, sedativas e outras atividades farmacológicas significativas que podem interagir com os efeitos do THC. (66)

Foi demonstrado que o CBN diminui a frequência cardíaca sem afetar o fluxo sanguíneo coronariano, diminui a motilidade intestinal e inibe a agregação plaquetária. Além disso, o CBN é um regulador descendente do intensificador da cadeia leve kappa do fator nuclear de células B ativadas (NF-B), neutralizando assim os efeitos do THC, que aumenta o NF-B. (67)

3.5.Canabidivarina

A canabidivarina (CBDV) (Figura 3.1) é um análogo do CBD. Devido à ausência de atividade psicotrópica e a sua promissora utilidade como agente anticonvulsivante, torna o CBDV um grande potencial terapêutico. Embora este fitocannabinóide tenha sido isolado em 1969, pouco se sabe sobre o seu mecanismo de ação. Como o CBD, e ao contrário do THC, o CBDV tem uma afinidade muito baixa para os recetores CB1 e CB2. O CBDV atua como um agonista dos canais dos recetores anquirina de potencial transitório 1 (TRPA1, do inglês *transient receptor potential cation channel subfamily A member 1*) TRPV1, e recetores valinóides de potencial transitório 2 (TRPV2, do inglês *transient receptor potential cation channel subfamily V member 2*), como um agonista inverso do GPR6 e como um antagonista do GPR55 (recetores acoplado à

proteína G). Além disso, foi demonstrado que pode inibir a DAGL (do inglês *diacylglycerol lipase*), a enzima biossintética de 2-AG. (68)

Apesar da falta de informação sobre o seu mecanismo de ação, o CBDV está a ser testado em estudos pré-clínicos para transtornos do espectro do autismo (TEA) e epilepsia infantil. (69)

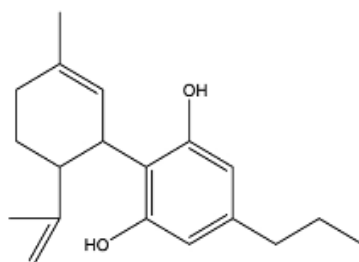


Figura 3.1 – Estrutura química da canabidivarina. Adaptado de: (69)

4. Aplicações do cânhamo-indiano

C. sativa é uma espécie altamente versátil com dezenas de utilizações diferentes. Para além da grande variedade de aplicações terapêuticas, as fibras desta planta apresentam um alto potencial de captação de carbono devido ao seu rápido crescimento. Por este motivo é utilizada para o armazenamento de carbono em materiais de construção ou como biocombustível. Pelas razões apresentadas anteriormente, a indústria de cânhamo-indiano está em constante expansão e evolução, sempre tendo em conta o clima local e condições de produção necessárias, adequando sempre para as aplicações específicas. (4)

Como já referido, os tricomas presentes nas flores femininas produzem fitocanabinóides eficazes, incluindo o CBD, que apresenta uma ampla gama de utilizações medicinais que foram demonstrados em ensaios clínicos. Por outro lado, os caules desta planta podem ser usados para o fabrico de tecidos, papel e materiais de construção. Além disto, as raízes da planta do cânhamo têm sido usadas em remédios tradicionais à base de plantas. As sementes podem ser processadas para biocombustível ou prensadas para obtenção de óleo para consumo humano.(4)

4.1.Utilização de *C. sativa* na indústria têxtil, alimentar e cosmética

A indústria de produção de cânhamo-indiano está em constante crescimento e mais de 30 países fazem a produção desta planta, estando a China em primeiro lugar nesta lista. A Europa e o Canadá também apresentam uma boa posição na lista de países que têm produção de cânhamo indiano. Estima-se que o mercado desta represente mais de 25.000 produtos, desde têxteis, roupas, cordas, artigos de decoração, óleos industriais, cosméticos, alimentos e produtos farmacêuticos (Figura 4.1). (3)



Figura 4.1 – Alguns produtos feitos de cânhamo-indiano ((a)- casca de cânhamo; (b)- cânhamo; (c)-fibra de cânhamo; (d)- corda material de isolamento; (e)- material de isolamento; (f)- placas para aquecimento; (g)- plástico para impressão 3D; (h)- semente de cânhamo; (i)- chá; (k)- chocolate; (l)- rebuçados). Adaptado de: (4)

Do talo do cânhamo retira-se a fibra e das sementes, o tão famoso óleo de cânhamo muito utilizado na indústria alimentar e cosmética, uma vez que apresenta um alto valor nutricional e propriedades farmacológicas. A fibra de cânhamo-indiano é cultivada em regiões temperadas. A semente de cânhamo-indiano (em grão) e seus derivados têm ganhado popularidade entre os consumidores e têm múltiplas utilizações. (3)

De salientar que o cultivo industrial desta planta é mais eficiente do que o de muitas outras culturas e a nível ambiental muito menos poluente. A densidade de plantação depende do tipo de cultura. O cânhamo-indiano de fibra dá-se bem em alta densidade para estimular o crescimento do caule, mas a semente oleaginosa e o cânhamo-indiano CBD devem ser plantados mais afastados para encorajar uma maior ramificação e rendimento de flores. (3)

A seleção de um produto final específico (fibra, sementes ou produtos das inflorescências) reflete-se na estrutura da planta. No entanto, a estrutura também depende fortemente da densidade da planta, da duração do dia e dos nutrientes e humidade disponíveis no solo onde são plantadas. Como cultura de fibra, a espécie vegetal oferece um alto rendimento; produz 250% mais fibra do que o algodão e 600% mais fibra do que o linho, numa mesma área de plantação. (3)

O setor industrial de produção de cânhamo-indiano em maior escala destina-se à produção de material de construção, isolamento, papel e têxteis a partir da fibra. No entanto, os setores de indústria alimentar e cosmética têm apresentado uma evolução crescente nos últimos anos. (3)

No que toca à utilização de cânhamo-indiano na indústria alimentar, este é usado uma vez que a composição nutricional é bastante completa e saudável tanto para humanos como para animais. A planta é rica em ácidos gordos saudáveis como o ómega 3 e ómega 6. Para além destes, é rico em vitaminas e minerais e contém na sua constituição importantes aminoácidos. (3)

De destacar que o cânhamo-indiano é atualmente a única fonte natural de ácido γ -linoleico, que apresenta benefícios terapêuticos em doenças dermatológicas como o caso do eczema, daí o seu interesse por parte da indústria cosmética. Para além disto, neste setor, o óleo da semente de cânhamo-indiano é muito utilizada como uma excelente alternativa aos químicos e compostos à base de petróleo que se usam em cremes. Este óleo é utilizado pelas suas propriedades emolientes, hidratantes e antioxidantes, na produção de sabões, manteigas corporais, perfumes, shampoos, entre outros. (3)

Atualmente os mercados “bio”, ditos naturais têm ganho muito valor e a produção de cânhamo-indiano para a indústria alimentar e cosmética não é exceção. Tem-se vindo

a valorizar cada vez mais os produtos naturais em substituição aos químicos obtidos por síntese usados tanto em cosmética como a nível alimentar. (3)

4.2. Aplicações terapêuticas de CBD e CBDV em algumas patologias

O uso de *C. sativa* para fins terapêuticos tem sido estabelecido em várias culturas ao longo dos séculos. Na Europa, no final do século XIX, era usado para tratar dores, cólicas, espasmos, asma, distúrbios do sono, depressão e vômitos. (70) Porém, atualmente, o uso do cânhamo-indiano medicinal tem sido explorado devido a estudos com extratos de plantas ou com os fitocanabinóides isolados e purificados. (70)

Como já referido, o CBD é o fitocanabinóide não psicotrópico mais estudado, sendo reconhecido pelos seus efeitos anti-inflamatórios, neuroprotetores, antiepilépticos e analgésicos, bem como, pelas suas propriedades antitumorais. (71) Embora menos conhecido, o CBDV, nos últimos anos, tem sido explorado principalmente pela sua ação antiepiléptica, benefícios potenciais em TEA e, mais recentemente, pelas suas propriedades anti-inflamatórias. (69)

Destaca-se que o sistema endocanabinóide parece ter um papel importante, uma vez que alterações na expressão / atividade dos recetores de canabinóides, enzimas metabólicas endocanabinóides e dos níveis de endocanabinóides foram demonstradas em diversas patologias, como complicações na gravidez, distúrbios neurodegenerativos / neuroinflamatórios, doenças inflamatórias intestinais, epilepsia e cancro. (71) Isto sugere que a sinalização canabinóide pode desempenhar um papel relevante nestas doenças.

4.2.1. Ação anti-inflamatória

De acordo com vários estudos, o CBD parece ter efeito imunomodulador e anti-inflamatório em diversas condições, como artrite, doenças inflamatórias intestinais e doenças inflamatórias pulmonares.

Num estudo relativo à artrite induzida por adjuvante em ratos, a aplicação tópica de gel de CBD foi testada para estudar o seu impacto no alívio dos sintomas da artrite. Verificou-se que dependendo da dose, a administração transdérmica de CBD resultou

na diminuição do edema das articulações, infiltração de células do sistema imunológico e espessamento da membrana sinovial. Além disso, foi observada uma redução de biomarcadores pró-inflamatórios, como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α). (72)

Em murganhos, o CBD é capaz de aliviar a inflamação associada à esteatose hepática induzida por uma dieta rica em gordura e colesterol, diminuindo a quimiocina MCP-1, citocinas pró-inflamatórias, interleucina (IL) -1 β e TNF- α , bem como, inibir a via NF- κ B. (73)

Leucócitos polimorfonucleares humanos (PMNs) participam nos processos inflamatórios por meio da libertação de quimiocinas, citocinas e espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*). O CBD isolado, assim como um extrato de *C. sativa* padronizado com 5% de CBD e um teor de THC <0,2%, teve a capacidade de inibir a migração de PMNs e a produção de ROS e de TNF- α . (74)

As células estromais mesenquimais multipotentes (MSCs do inglês *multipotent mesenchymal stem cells*) têm um papel importante no processo de cicatrização. Quando as MSCs são expostas ao lipopolissacarídeo (LPS), molécula que induz inflamação, inicia-se a reação inflamatória e por sua vez há um aumento do stress oxidativo das células. Verificou-se neste estudo, que o CBD diminui o stress oxidativo celular e mantém a regeneração dos tecidos através da reestruturação das capacidades de diferenciação das MSCs no tecido inflamado, sem interferir com a atividade proliferativa das células. (75)

O CBD também demonstrou ter propriedades benéficas nas doenças inflamatórias intestinais (DII), como a colite ulcerativa e a doença de Crohn. O CBD e a palmitoiletanolamida, um composto semelhante ao endocanabinóide, induzem uma ação anti-inflamatória em amostras de cólon humano de apendicite aguda e nas DII, reduzindo a produção de citocinas. No caso do CBD, este efeito era dependente dos recetores CB2 e TRPV1. (76)

Os efeitos protetores do CBD numa inflamação pulmonar induzida por LPS foram relatados, nomeadamente a melhoria de diversos parâmetros associados à função pulmonar e uma redução na migração de leucócitos, atividade da mieloperoxidase, permeabilidade vascular e níveis de mediadores pró-inflamatórios. (77) Além disso, num estudo em modelos murinos com asma, foram demonstrados os efeitos imunomoduladores e anti-inflamatórios do CBD, uma vez que diminuiu os níveis séricos de citocinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 e TNF- α). (78) Para além disto, o CBD reduziu os níveis

de citocinas pró-inflamatórias em células de pulmão, o conteúdo de fibra de colagénio no tecido pulmonar e a hiperresponsividade das vias aéreas em modelos murinos com asma alérgica induzida por ovalbumina. (78)

No que toca ao CBDV, num estudo com modelos murinos com colite, este diminuiu a inflamação, reduzindo a infiltração de neutrófilos e a produção de citocinas pró-inflamatórias e restabeleceu a permeabilidade intestinal. Além disso, nas biópsias do cólon de crianças com colite ulcerosa, o CBDV também reduziu a produção de citocinas. Esses efeitos parecem ser dependentes da ativação do canal TRPA1, que foi regulado positivamente tanto na colite murina quanto na mucosa das crianças. (79)

4.2.2. Doenças neurodegenerativas

O uso terapêutico de canabinóides em doenças neurodegenerativas, como esclerose múltipla (EM), doença de Alzheimer (DA) e doença de Parkinson (DP) tem sido amplamente discutido nos últimos anos. (79)

- Doença de Alzheimer

A DA é caracterizada principalmente pela agregação de placas beta-amilóides extracelulares (A β) e emaranhados neurofibrilares intracelulares com uma forma hiperfosforilada da proteína tau. Estes agregados acumulam-se no SNC, o que leva à inflamação crónica e dano oxidativo, com consequente morte neuronal. (80)

Alguns estudos já descreveram o potencial terapêutico do CBD nesta doença, seja pela inibição da fosforilação anormal da proteína tau, seja pela promoção da ubiquitinação dos precursores de A β . (80) Num estudo *in vivo* de DA, foi demonstrado que o CBD reduz a transcrição de moléculas pró-inflamatórias gliais, como IL-1 β , e da monóxido de azoto sintase induzível (iNOS, do inglês *inducible nitric oxide synthase*). (81) O CBD também causou a redução do monóxido de azoto, TNF- α e IL-1 β , via ativação do receptor- γ ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR- γ , do inglês *peroxisome proliferator-activated receptor- γ*), promovendo, dessa forma, um estado anti-inflamatório e neurogénese, seja em astrócitos de cultura primária ou num rato com neuro-inflamação. (82)

Por outro lado, o CBD em células-tronco mesenquimais derivadas da gengiva que são capazes de se diferenciar em células neurais, reduziu a expressão das principais cinases envolvidas na fosforilação da proteína tau, como GSK3 β e CDK5, regulou negativamente a expressão de enzimas associadas com o processo amiloidogénico e aumentou a ubiquitinação da proteína. Esses efeitos parecem ser dependentes do recetor TRPV1. (80)

- Doença de Parkinson

A DP é uma doença neurodegenerativa associada à perda de neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra*, que leva a distúrbios motores, como tremor de repouso, bradicinesia e rigidez muscular, e sintomas não motores, como distúrbios do sono, ansiedade, depressão, sintomas psicóticos e défice cognitivo. (83)

Alguns estudos apoiam o uso do CBD como terapia adjuvante. Na verdade, Lastres-Becker et al. (84) demonstraram, pela primeira vez, a ação neuroprotetora do CBD, ao prevenir a interrupção da homeostase da dopamina, num estudo animal de DP exposto à neurotoxina 6-hidroxidopamina.

De todos os sintomas associados à DP, a psicose é um dos mais difíceis de tratar. Num ensaio clínico com 6 pacientes com DP que apresentavam sintomas psicóticos, um tratamento com CBD de 4 semanas resultou numa melhoria nos valores totais da Escala de Avaliação Psiquiátrica Breve com uma diminuição dos sintomas psicóticos. (85) Além disso, um relato de caso com apenas 4 pacientes com distúrbio do sono de movimento rápido dos olhos associado à DP, mostrou que 75 mg e 300 mg / dia de CBD reduziram os sintomas. (85) O mesmo grupo de pesquisa conduziu um ensaio clínico com 21 pacientes, que foram igualmente distribuídos em 3 grupos (placebo, CBD 75 mg / dia e CBD 300 mg / dia). Depois de 6 semanas de tratamento com 300 mg de CBD / dia, verificou-se uma melhoria significativa da qualidade de vida dos pacientes com DP e sem comorbidades psiquiátricas foi observada quando comparados ao grupo placebo. (86)

- Esclerose Múltipla

A EM é uma doença desmielinizante autoimune crónica, que tem vários fatores envolvidos, incluindo neuroinflamação. (79)

O efeito do CBD perante uma doença desmielinizante induzida pelo vírus da encefalomielite murina de Theiler, foi na diminuição da infiltração de leucócitos com uma redução da expressão da molécula-1 de adesão celular vascular, das quimiocinas CCL2 e CCL5 e da citocina pró-inflamatória IL-1 β . Além disso, houve uma atenuação da ativação microglial e os efeitos foram parcialmente dependentes dos recetores de adenosina A2A. (87)

Também a partir de um modelo experimental de encefalomielite murina autoimune de EM, o CBD diminuiu a infiltração de células T no SNC, os níveis das citocinas IFN- γ e IL-17 e causou um aumento de células supressoras derivadas de mielóide. (88)

Estes estudos contribuem para o reconhecimento do CBD como uma molécula anti-inflamatória, antioxidante e neuroprotetora. O uso de *C. sativa* como analgésico dos sintomas associados à EM é aceite há vários anos, o que explica o desenvolvimento do medicamento Sativex® à base de canabinóides.

4.2.3. Epilepsia e Transtornos do espectro do autismo (TEA)

A epilepsia é um distúrbio neurológico caracterizado pela ocorrência de crises recorrentes devido à atividade elétrica anormal no cérebro. Embora existam vários medicamentos antiepilépticos disponíveis, uma proporção significativa dos doentes não responde a esses medicamentos, resultando num descontrolo das crises. Portanto, é necessário encontrar alternativas de tratamento eficazes. Os benefícios terapêuticos dos canabinóides na epilepsia são bem reconhecidos e, recentemente, têm recebido muita atenção, principalmente devido aos efeitos antiepilépticos do CBD e ao potencial emergente do CBDV. (79)

Vários estudos pré-clínicos relatam as propriedades anticonvulsivas do CBD. Usando um modelo de rato com *status epilepticus* induzido pela pilocarpina, foi descrito um efeito protetor do CBD. (89) Num estudo com um modelo epileptiforme *in vitro* e um modelo *in vivo* de crises generalizadas induzidas por agentes pró-convulsivos, o CBD reduziu a atividade e a gravidade das crises, por meio de um mecanismo independente do CB1. (90)

A importância dos efeitos farmacológicos dos canabinóides na epilepsia também foi estudada e mostrou-se que o CBD e o CBDV dificultam a hiperexcitabilidade neuronal por meio do TRPV1 e TRPA1. (79) Recentemente, no âmbito do Programa de Triagem de Terapia de Epilepsia e usando roedores, foi demonstrado o efeito protetor do CBD na epilepsia refratária. (91) De facto, atualmente, está disponível uma solução oral de CBD, Epidiolex®, para uso médico em crianças com epilepsia refratária, ou seja, a síndrome de Dravet e a síndrome de Lennox-Gastaut. (79) No entanto, os mecanismos de ação e os alvos envolvidos neste efeito terapêutico permanecem mal caracterizados. Atualmente, além da comercialização do Epidiolex®, os ensaios clínicos com CBD estão em andamento para diferentes tipos de epilepsia. (92)

O CBDV também tem um papel promissor no tratamento da epilepsia. As suas propriedades anticonvulsivantes foram evidenciadas em modelos animais e associadas a um mecanismo independente da ativação do CB1. (79) As propriedades antiepilépticas do CBDV foram reforçadas num estudo onde uma regulação negativa dos níveis de genes relacionados à epilepsia, como Fos, Egr1, Arc e Bdnf, foi detetada no cérebro de ratos após o tratamento com pentilenotetrazol, um indutor de convulsões. Mais recentemente, a segurança e eficácia do CBDV em convulsões refratárias pediátricas foi finalmente comprovada, usando murganhos com 20 dias (correspondendo ao final da infância em humanos) nos quais as convulsões foram induzidas. (69) Além disso, neste estudo, foi reforçada a relevância dos recetores vanilóides no efeito anticonvulsivo, tópico que tem sido muito explorado nos últimos anos. (69)

Os TEA são um conjunto de transtornos do neurodesenvolvimento heterogéneo caracterizados por dificuldades de comunicação e interação social, com comportamentos repetitivos típicos. (79)

Níveis séricos mais baixos de endocanabinóides, como AEA, foram observados em crianças com TEA, quando comparados a um grupo de controlo,(93) o que sugere um papel do sistema endocanabinóide na sinalização canabinóide nestas patologias.

De facto, num estudo realizado em ratos com comportamentos semelhantes aos do TEA induzidos pela exposição pré-natal ao ácido valpróico, o CBDV foi capaz de restaurar a sinalização endocanabinóide no cérebro, normalizando os níveis dos recetores amida hidrolase de ácido gordo (FAAH, do inglês *fatty acid amide hydrolase*), MAGL e CB1. Além disso, reduziu a neuroinflamação e melhorou as condições semelhantes ao TEA,

como défices de memória e deficiências sociais. (94) Em homens adultos com TEA, uma única dose oral de 600 mg de CBDV foi capaz de interferir com as vias glutamatérgica e GA-BAérgica no cérebro, embora a resposta biológica possa diferir entre indivíduos autistas. (95) Além disso, uma vez que os canais TRP estão localizados em regiões relevantes para a sintomatologia do TEA, os efeitos do CBD e do CBDV podem ser dependentes da ativação desses alvos. (95)

Relativamente ao CBD, foi relatada uma melhoria dos sintomas associados ao TEA em crianças que tomavam CBD oral. (96) Além disso, um extrato enriquecido com CBD melhorou os problemas de comportamento em 61% das crianças com TEA. (97) Atualmente, tanto o CBD quanto o CBDV estão em ensaios clínicos de fase 2 para TEA, o que destaca o interesse potencial destes canabinóides nesta patologia.

4.2.4. Dor

O recurso a canabinóides no controlo da dor tem sido considerado um tema bastante relevante nos últimos anos e a sua eficácia tem sido estudada em diferentes tipos de dor, como a dor crónica e a dor relacionada ao cancro. (98)

Maione et al. (2011) relataram a indução de antinocicepção pelo CBD por meio de vários mecanismos de ação, como a ativação de recetores de adenosina e TRPA1. Neste estudo, o CBD também pareceu atuar por meio da ativação dos recetores de serotonina 1A (5-HT_{1A}, do inglês *serotonin receptor 1A*). Este mecanismo de prevenção de sinais comportamentais de neuropatia diabética, denominada alodínia mecânica foi, recentemente, demonstrado em ratos com diabetes induzida por estreptozotocina. Nesse estudo, quando administrado no início da diabetes, o CBD foi capaz de reduzir a microgliose, a alodinia tátil e a hiperalgesia térmica, características de um estado de dor neuropática. (99) A atenuação da alodinia mecânica por baixas concentrações de CBD, via recetores TRPV1 e 5-HT_{1A}, também foi descrita num estudo com ratos com dor neuropática induzida por um procedimento de lesão de nervo poupado. Isso pode justificar o uso de CBD na dor neuropática associada a diabetes. (99)

Além disso, em murganhos, o CBD preveniu a sensibilidade mecânica e térmica induzida pelo agente anticancerígeno paclitaxel, uma ação que foi parcialmente mediada pelo recetor 5-HT_{1A} (5-hidroxitriptamina 1A). (100) Isso demonstra que o CBD

também pode ter um papel protetor na dor neuropática induzida por quimioterapia. (100)

É importante ressaltar que o Sativex®, uma combinação de CBD com THC, é amplamente utilizado para o alívio da dor associada à esclerose múltipla, demonstrando a relevância dos canabinóides como terapia adjuvante aos analgésicos convencionais. (101)

4.2.5. Cancro

O CBD e outros canabinóides parecem ser uma estratégia promissora no tratamento do cancro, não só pelo alívio dos sintomas, como dor e náusea em doentes em quimioterapia,(102) mas também pela sua capacidade de interferir na proliferação e morte das células cancerígenas.

O potencial terapêutico dos canabinóides no cancro pode ser explicado pela indução de diferentes mecanismos bioquímicos de morte celular, como apoptose e autofagia, que podem ser dependentes da ativação de canabinóides ou de recetores não canabinóides (103). Curiosamente, conforme referido acima, o sistema endocanabinóide também parece ter um papel importante no cancro, uma vez que os níveis de expressão dos recetores de canabinóides, endocanabinóides e enzimas metabólicas são modificados em diferentes tecidos cancerígenos. Em alguns casos, essas alterações podem até estar associadas ao prognóstico da doença. (104) Essa relação enfatiza o crescente interesse clínico nos últimos anos pelos canabinóides e medicamentos à base de canabinóides enquanto fármacos anticancerígenos.

Munson et al. (71) conduziram o primeiro estudo que relatou as propriedades antiproliferativas de fitocanabinóides, THC e CBN, num modelo animal de adenocarcinoma de pulmão.(105) Enquanto isso, vários estudos foram realizados para avaliar os efeitos antitumorais dos canabinóides em diversos tipos de cancro. (71) Nos últimos anos, o potencial antitumoral do CBD também tem sido investigado em associação com quimioterápicos, como doxorubicina, carmustina e temozolomida.

- Cancro no cérebro

De acordo com o banco de dados GLOBOCAN, gerenciado pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer, em 2018 cerca de 297.000 novos casos de câncer no cérebro e 241.000 mortes foram estimados. (106)

Em relação ao potencial terapêutico dos canabinóides no câncer cerebral, a maioria dos estudos pré-clínicos enfoca o glioblastoma multiforme (GBM), o tumor maligno mais agressivo do SNC, caracterizado pela sua elevada capacidade de invasão e mau prognóstico.(107) Usando glioma *stem-like cells* (GSC), foi relatada uma via autofágica promovida pelo CBD, uma via de ativação do TRPV2 e regulação do fator de transcrição Leucemia mieloide aguda. Este mecanismo levou à inibição da proliferação celular, paragem do ciclo celular, promoção da diferenciação celular e aumento da suscetibilidade das células à carmustina. (108)

Em outro estudo com GSC, o CBD foi capaz de induzir a apoptose por meio de um aumento na produção de ROS, que estava relacionada a uma regulação negativa de reguladores de células-estaminais como o inibidor da proteína de ligação ao DNA (Id-1), região Y determinante do sexo Y-box 2 e transdutor de sinal fosforilado e ativador da transcrição 3 (p-STAT3, do inglês, *phosphorylated-signal transducer and activator of transcription 3*), bem como, para a ativação da via p38 MAPK (do inglês *mitogen-activated protein kinase*). (109) Além disso, as micropartículas carregadas com CBD foram capazes de reduzir a proliferação e angiogênese e induzir a apoptose num modelo de xenoinxertos de GBM. (110)

A inibição do crescimento tumoral pelo CBD pode estar associada à modulação do sistema endocanabinóide, uma vez que o CBD exerce efeitos antiproliferativos nas células U87 ao diminuir a atividade da enzima 5-lipoxigenase, que tem papel no metabolismo dos endocanabinóides. Além disso, o CBD aumenta a atividade da amida hidrolase de ácido gordo, levando a uma diminuição dos níveis de AEA. (111)

A administração concomitante do agente alquilante temozolomida com uma mistura de THC mais CBD é capaz de reduzir a viabilidade de células de glioma humano e o crescimento de xenoinxertos de glioma, por promover autofagia e apoptose. (112)

Estudos que usaram duas linhas de células de glioma humano, T98 e U87, e uma linha de células de glioma de murganho (GL261) implantada em modelos murinos, mostraram que a combinação de radioterapia com THC mais preparações de CBD inibiu o crescimento celular *in vitro* e aumentou os marcadores apoptóticos e autofágicos.

Além disso, esta combinação também foi capaz de reduzir o volume do tumor *in vivo*. (113)

O efeito citotóxico do CBD em células de glioma foi devido a um aumento na produção de ROS, que foi seguido por uma regulação positiva das proteínas de choque térmico. A co-administração de inibidores destas proteínas aumentou a citotoxicidade do CBD e aumentou a sensibilidade à radiação. (114) Mais recentemente, num estudo com nove doentes que apresentavam tumores cerebrais foi-lhes administrada uma dose diária de 400 mg de CBD (> 99,8% de pureza) concomitantemente com um tratamento convencional, e foi observado um aumento na qualidade de vida e sobrevida desses doentes. (115)

Resumindo, os estudos apresentados reforçam não apenas o potencial terapêutico do CBD sozinho no GBM, mas também os possíveis benefícios da combinação de THC e CBD com outras abordagens terapêuticas no tratamento do cancro cerebral.

- Cancro da mama

O cancro de mama é o cancro mais comumente diagnosticado e a principal causa de morte por cancro em mulheres em todo o mundo. (116) Em 2018, o GLOBOCAN estimou 2,1 milhões de novos casos diagnosticados, sendo responsáveis por quase 1 em cada 4 casos de cancro entre mulheres e 627.000 mortes. (106) Embora nos últimos anos, as taxas de sobrevivência tenham aumentado, existem subtipos agressivos relacionados a um mau prognóstico, o desenvolvimento de metástases e a ocorrência de resistência às terapias. (117)

Existem três subtipos de cancro de mama diferentes:

- cancro de mama hormono-dependente, onde as células expressam o recetor de estrogénio (RE) e / ou o recetor de progesterona;
- cancro de mama HER2-positivo, que expressa o recetor do fator de crescimento epidérmico humano 2;
- cancro de mama triplo-negativo (TNBC, do inglês *triple-negative breast cancer*), onde nenhum dos três recetores é expresso.

Os últimos subtipos são os subtipos menos diferenciados e mais invasivos, estando associados a um pior prognóstico quando comparados aos subtipos hormono-dependentes. (118)

Diversos estudos pré-clínicos foram desenvolvidos para avaliar as propriedades antitumorais de fitocanabinóides nos diferentes subtipos de cancro de mama(117), porém a maioria dos estudos foi realizada em TNBC e, apenas recentemente, foi destacado que ainda não há evidência sobre os efeitos dos fitocanabinóides nos resultados do tratamento e prognóstico do cancro de mama RE +. (119) No entanto, sabe-se que o CBD e um extrato enriquecido com CBD foram capazes de induzir apoptose tanto *in vitro* quanto *in vivo* em modelos de TNBC, por meio de mecanismos dependentes ou independentes de CB2 e TRPV1. (120)

O inibidor da proteína de ligação ao DNA do fator de transcrição (Id-1) está envolvido na modulação da proliferação, migração e invasão das células cancerígenas do cancro da mama, contribuindo para a metástase. De facto, o CBD é capaz de reduzir a expressão do mRNA e da proteína Id-1, *in vitro* e *in vivo*, reduzindo a agressividade das células TNBC. (59) Esse efeito foi associado à ativação da via da cinase regulada por sinal extracelular e ao stress oxidativo.(121)

Outro mecanismo envolvido no efeito antineoplásico do CBD é a inibição da via EGF / EGFR, que está associada à proliferação celular e migração / invasão. Além disso, o CBD também foi capaz de modificar o microambiente tumoral por meio da modulação da produção de citocinas, reduzindo o recrutamento de macrófagos e a capacidade metastática do tumor. (122) De destacar que a administração concomitante *in vivo* de CBD e doxorrubicina (DOX) reduziu o volume e o peso do tumor e aumentou os níveis de poli (ADP-ribose) polimerase clivada (PARP) e de caspase-3, sugerindo o envolvimento de um processo apoptótico. Foi demonstrada a relevância da expressão do TRPV2 nas células TNBC e sua possível associação com um bom prognóstico. O CBD é, portanto, capaz de ativar o TRPV2, aumentando a captação do agente quimioterápico DOX e sua eficácia. (123)

Em relação à administração de medicamentos, a eficácia do CBD no tratamento do cancro, é uma preocupação crescente e muito explorada em vários estudos. Foi relatado que uma solução de CBD encapsulada em micropartículas pode ser considerada uma boa abordagem para otimizar os efeitos antiproliferativos do CBD e de terapias

convencionais, como paclitaxel e DOX. (124) Todos esses estudos apoiam o uso do CBD como uma estratégia complementar para diferentes subtipos de cancro de mama.

- Cancro colorretal

O cancro colorretal (CCR) é o segundo cancro mais letal do mundo, com 1,8 milhões de novos casos diagnosticados e 881.000 mortes estimadas em 2018. (106) A ação anti-inflamatória do CBD pode ser muito útil, uma vez que a inflamação intestinal costuma estar associada ao desenvolvimento do CCR. (125)

Como já demonstrado, o CBD interfere na metastização do cancro por meio da inibição das vias de sinalização nas quais a desfosforilação das cinases é necessária. Dessa forma, foi demonstrado que o CBD exerce a sua atividade antitumoral por indução de fosfatases. O CBD induziu apoptose, em células SW480, uma linhagem celular CCR, num mecanismo promovido por fosfatases, que inativou várias quinases fosforiladas relacionadas à proliferação tumoral, como p38 MAPK, AKT ou PKB (do inglês *protein kinase B*) e STAT3 (do inglês *signal transducer and activator of transcription 3*). (125)

Num estudo experimental de CCR, em murganhos tratados com azoximetano, um composto carcinogénico que leva a focos de criptas aberrantes, pólipos e formação de tumor, o CBD reduziu o número de estruturas desenvolvidas. Além disso, foi observado um aumento na atividade da caspase-3 e uma regulação negativa da via de sinalização PI3K - AKT (do inglês *intracellular signal transduction pathway*). (125)

Muito recentemente, foi demonstrada a capacidade do CBD de induzir apoptose e inibir a angiogénese e metástase em murganho de CCR. (126)

Usando duas linhas de células CCR resistentes à oxaliplatina humana, foi demonstrada a capacidade do CBD de induzir autofagia *in vitro* e *in vivo*, por meio de disfunção mitocondrial, com diminuição da fosforilação de monóxido de azoto sintase 3 e de superóxido dismutase 2. Isso foi associado a uma redução da resistência à oxaliplatina, um agente anticancerígeno geralmente usado no CCR. Todos esses estudos indicam que o CBD pode ser uma possível estratégia terapêutica para combater a alta morbimortalidade do CCR.

5. Perspetivas futuras

O uso dos fitocannabinóides parece ser uma estratégia promissora para superar a falta de tratamentos convencionais eficientes em diversas patologias, como doenças neurodegenerativas, epilepsia, dor crónica e cancro. Além disso, a pesquisa contínua, em paralelo com a evidência das propriedades terapêuticas destes fitocannabinóides, pode levar à descoberta de novas aplicações clínicas potenciais. (2)

Tal como apresentado anteriormente através de estudos pré-clínicos, *C. sativa* apresenta, de facto, bastantes benefícios terapêuticos. No entanto, serão necessários mais estudos que comprovem a sua eficácia. No geral, ainda não há evidências fortes para o uso de CBD e CBDV no tratamento da dor e os mecanismos por trás da modulação da dor não estão bem elucidados, portanto, estudos futuros devem ser realizados para esclarecê-lo. (2)

O recente progresso na pesquisa de *C. sativa* foi notável e revelou desafios emocionantes. O aumento da disponibilidade de recursos genómicos, sem dúvida, facilitará o progresso em todas essas áreas, mas considera-se que as análises experimentais, incluindo morfologia detalhada, genética molecular e estudos de fenotipagem serão importantes para compreender esta planta. (4)

Apesar da controvérsia persistente, o uso de *C. sativa* para fins medicinais representa o renascimento de uma planta com significado histórico que ressurgiu nos cuidados de saúde atuais. A legislação que rege a utilização de *C. sativa* medicinal continua a evoluir rapidamente, exigindo que os farmacêuticos e outros médicos se mantenham atualizados sobre as novas regulamentações estaduais ou alterações nas implicações institucionais. (12)

6. Referências bibliográficas

1. Challa SKR, Misra NN, Martynenko A. Drying of cannabis—state of the practices and future needs. *Dry Technol.* 2020;0(0):1–10.
2. Alves P, Amaral C, Teixeira N, Correia-da-Silva G. *Cannabis sativa*: Much more beyond Δ^9 -tetrahydrocannabinol. *Pharmacol Res.* 2020;157(April).
3. Crini G, Lichtfouse E, Chanut G, Morin-Crini N. Applications of hemp in textiles, paper industry, insulation and building materials, horticulture, animal nutrition, food and beverages, nutraceuticals, cosmetics and hygiene, medicine, agrochemistry, energy production and environment: a review. *Environ Chem Lett.* 2020;18(5):1451–76.
4. Schilling S, Dowling CA, Shi J, Ryan L, Hunt D, O'Reilly E, et al. The cream of the crop: biology, breeding and applications of *Cannabis sativa*. *Authorea.* 2020;1–69.
5. Hesami M, Pepe M, Alizadeh M, Rakei A, Baiton A, Phineas Jones AM. Recent advances in cannabis biotechnology. *Ind Crops Prod.* 2020;158(October).
6. Fleming M, Clarke R. Physical evidence for the antiquity of *Cannabis sativa* L. *J Int Hemp Assoc.* 1998;5(2):80–95.
7. Chaohua C, Gonggu Z, Lining Z, Chunsheng G, Qing T, Jianhua C, et al. A rapid shoot regeneration protocol from the cotyledons of hemp (*Cannabis sativa* L.). *Ind Crops Prod.* 2016;83:61–5.
8. Touw M. The religious and medicinal uses of cannabis in China, India and Tibet. *J Psychoactive Drugs.* 1981;13(1):23–34.
9. Zuardi AW. History of cannabis as a medicine: A review. *Rev Bras Psiquiatr.* 2006;28(2):153–7.
10. Kalant H. Medicinal use of cannabis: History and current status. Vol. 6, *Pain Res Manage.* 2001.
11. SICAD [Internet]. Disponível em: <http://www.sicad.pt/PT/Cidadao/Tu-alinhas/ComportamentosAditivos/Paginas/detalhe.aspx?itemId=9&lista=HistorialLegislacao&bkUrl=/BK/Cidadao/Tu-alinhas/ComportamentosAditivos>. Último acesso a 28/09/2021.
12. Bridgeman MB, Abazia DT. Medicinal cannabis: history, pharmacology, and implications for the acute care setting. *P&T.* Vol. 42. 2017.
13. Infarmed. DELIBERAÇÃO N.º 11/CD/2019. Vol. 11. 2019. p. 1–14. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/2893227/lista+das+indica%C3%A7%C3%B5es+terap%C3%AAuticas+aprovadas+para+as+prepara%C3%A7%C3%B5es+e+subst%C3%A2ncias+%C3%A0+base+da+planta+da+can%C3%A1bis/294b3a2d-326b-46c3-9c08-a3b57427d027>. Último acesso a 28/09/2021.
14. Horne MRL. Bast fibres: Hemp cultivation and production. Vol. 1, *Handbook of Natural Fibres: Second Edition.* Elsevier Ltd; 2020. 163–196 p.
15. Netzahualcoyotzi Piedra C, Muñoz Arenas G, Martínez García I, Florán Garduño B, Limón-Pérez de León I. La marihuana y el sistema endocanabinoide : De sus efectos recreativos a la terapéutica. *Rev Biomédica.* 2009;20(2):128–53.
16. Sommano SR, Chittasupho C, Ruksiriwanich W, Jantrawut P. The cannabis terpenes. *Molecules.* 2020;25(24):1–16.
17. Barcaccia G, Palumbo F, Scariolo F, Vannozzi A, Borin M, Bona S. Potentials and

- challenges of genomics for breeding cannabis cultivars. *Front Plant Sci.* 2020;11(September).
18. Benvenuto E, Misra BB, Stehle F, Andre CM, Hausman J-F, Guerriero G. *Cannabis sativa*: The plant of the thousand and one molecules. *Front Plant Sci.* 2016. 1-12;
 19. ElSohly MA, Slade D. Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sci.* 2005;78(5):539–48.
 20. Townsend CA, Ebizuka Y. *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology: Natural Products Structural Diversity-I Secondary Metabolites Organization and Biosynthesis. Vol. 1, Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology.* 2010. 1006 p.
 21. Radwan MM, Ross SA, Slade D, Ahmed SA, Zulfiqar F, Elsohly MA. Isolation and characterization of new cannabis constituents from a high potency variety. *Planta Med.* 2008;74(3):267–72.
 22. Ross SA, Mehmedic Z, Murphy TP, ElSohly MA. GC-MS analysis of the total Δ^9 -THC content of both drug- and fiber-type cannabis seeds. *J Anal Toxicol.* 2000;24(8):715–7.
 23. Hemphill JK, Turner JC, Mahlberg PG. Cannabinoid content of individual plant organs from different geographical strains of *Cannabis sativa* L. *J Nat Prod.* 1980;43(1):112–22.
 24. Sirikantaramas S, Taura F, Tanaka Y, Ishikawa Y, Morimoto S, Shoyama Y. Tetrahydrocannabinolic acid synthase, the enzyme controlling marijuana psychoactivity, is secreted into the storage cavity of the glandular trichomes. *Plant Cell Physiol.* 2005;46(9):1578–82.
 25. Baptista CN. Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Uso da canábis no tratamento da epilepsia” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. Paulo Jorge da Silva Monteiro e do Professor Doutor Artur Manuel Bordalo Machado Figueirinha. Universidade de Coimbra. 2020.
 26. Turner C., Elsohly M., Boerex E. *ii Constituents of Cannabis sativa L. XVII, A review of the natural constituents.* Research Institute of Pharmaceutical Sciences USA A, 1980.
 27. Supaart Sirikantaramas, Futoshi Taura, Satoshi Morimoto, Yukihiro Shoyama. Recent advances in *Cannabis sativa* research: biosynthetic studies and its potential in biotechnology. *Curr Pharm Biotechnol.* 2007;8(4):237–43.
 28. Moreno T, Montanes F, Tallon SJ, Fenton T, King JW. Extraction of cannabinoids from hemp (*Cannabis sativa* L.) using high pressure solvents: An overview of different processing options. *J Supercrit Fluids.* 2020;161:104850.
 29. Hawes MD, Cohen MR. Method of drying cannabis materials - Patent Application No. : US 2015 / 0176237 A1. 2015;1(19).
 30. Valizadehderakhshan M, Shahbazi A, Kazem-Rostami M, Todd MS, Bhowmik A, Wang L. Extraction of cannabinoids from *Cannabis sativa* L. (hemp)-review. *Agric.* 2021;11(5).
 31. Marks MD, Tian L, Wenger JP, Omburo SN, Soto-Fuentes W, He J, et al. Identification of candidate genes affecting Δ^9 - tetrahydrocannabinol biosynthesis in *Cannabis sativa*. *J Exp Bot.* 2009;60(13):3715–26.
 32. Raharjo TJ, Chang W Te, Choi YH, Peltenburg-Looman AMG, Verpoorte R. Olivetol as product of a polyketide synthase in *Cannabis sativa* L. *Plant Sci.* 2004;166(2):381–5.

33. Burke CC, Wildung MR, Croteau R. Geranyl diphosphate synthase: Cloning, expression, and characterization of this prenyltransferase as a heterodimer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(23):13062–7.
34. Fellermeier M, Zenk MH. Prenylation of olivetolate by a hemp transferase yields cannabigerolic acid, the precursor of tetrahydrocannabinol. *FEBS Lett.* 1998;427(2):283–5.
35. Kovalchuk I, Pellino M, Rigault P, Van Velzen R, Ebersbach J, Ashnest JR, et al. The genomics of cannabis and its close relatives. *Annu Rev Plant Biol.* 2020;71:713–39.
36. Di Marzo V, Melck D, Bisogno T, De Petrocellis L. Endocannabinoids: Endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends Neurosci.* 1998;21(12):521–8.
37. Manzanares J, Corchero J, Romero J, Fernández-Ruiz JJ, Ramos JA, Fuentes JA. Pharmacological and biochemical interactions between opioids and cannabinoids. *Trends Pharmacol Sci.* 1999;20(7):287–94.
38. Howlett AC. Cannabinoid receptor signaling. *Handb Exp Pharmacol.* 2005;168:53–79.
39. Mechoulam R, Devane WA, Glaser R. Cannabinoid geometry and biological activity. *Marijuana/Cannabinoids.* 2019;1–34.
40. Mackie K, Hille B. Cannabinoids inhibit N-type calcium channels in neuroblastoma-glioma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(9):3825–9.
41. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature.* 1993;365(6441):61–5.
42. Molina-Holgado F, Pinteaux E, Moore JD, Molina-Holgado E, Guaza C, Gibson RM, et al. Endogenous interleukin-1 receptor antagonist mediates anti-inflammatory and neuroprotective actions of cannabinoids in neurons and glia. *J Neurosci.* 2003;23(16):6470–4.
43. Cabral GA, Raborn ES, Griffin L, Dennis J, Marciano-Cabral F. CB 2 receptors in the brain: Role in central immune function. *Br J Pharmacol.* 2008;153(2):240–51.
44. Di Marzo V, Bisogno T, De Petrocellis L. Endocannabinoids and related compounds: walking back and forth between plant natural products and animal physiology. *Chem Biol.* 2007;14(7):741–56.
45. Di Marzo V, Petrosino S. Endocannabinoids and the regulation of their levels in health and disease. *Curr Opin Lipidol.* 2007;18(2):129–40.
46. McFarland MJ, Barker EL. Anandamide transport. *Pharmacol Ther.* 2004;104(2):117–35.
47. Koutek B, Prestwich GD, Howlett AC, Chin SA, Salehani D, Akhavan N, et al. Inhibitors of arachidonoyl ethanolamide hydrolysis. *J Biol Chem.* 1994;269(37):22937–40.
48. Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Meozzi PA, Myers L, et al. Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: From mice to human subjects. *PLoS One.* 2008;3(2).
49. Parker LA, Burton P, Sorge RE, Yakiwchuk C, Mechoulam R. Effect of low doses of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol on the extinction of cocaine-induced and amphetamine-induced conditioned place preference learning in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2004;175(3):360–6.
50. Elmes MW, Kaczocha M, Berger WT, Leung KN, Ralph BP, Wang L, et al. Fatty acid-

- binding proteins (FABPs) are intracellular carriers for Δ 9-tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD). *J Biol Chem*. 2015;290(14):8711–21.
51. Zuurman L, Roy C, Schoemaker RC, Hazekamp A, Den Hartigh J, Bender JCME, et al. Effect of intrapulmonary tetrahydrocannabinol administration in humans. *J Psychopharmacol*. 2008;22(7):707–16.
 52. Henquet C, Rosa A, Krabbendam L, Papiol S, Fañanás L, Drukker M, et al. An experimental study of catechol-O-methyltransferase Val158Met moderation of Δ -9-tetrahydrocannabinol-induced effects on psychosis and cognition. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31(12):2748–57.
 53. Miller S, Daily L, Leishman E, Bradshaw H, Straiker A. Δ 9-Tetrahydrocannabinol and cannabidiol differentially regulate intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018. 5904-10;
 54. Marinelli L, Mori L, Canneva S, Colombano F, Currà A, Fattapposta F, et al. The effect of cannabinoids on the stretch reflex in multiple sclerosis spasticity. *Int Clin Psychopharmacol*. 2016;31(4):232–9.
 55. Costa B. On the pharmacological properties of Δ 9-tetrahydrocannabinol (THC). *Chem Biodivers*. 2007;4(8):1664–77.
 56. Esfandyari T, Camilleri M, Busciglio I, Burton D, Baxter K, Zinsmeister AR. Effects of a cannabinoid receptor agonist on colonic motor and sensory functions in humans: A randomized, placebo-controlled study. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*. 2007;293(1):137–45.
 57. Malfait AM, Gallily R, Sumariwalla PF, Malik AS, Andreakos E, Mechoulam R, et al. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(17):9561–6.
 58. Schier AR de M, Ribeiro NP de O, e Silva AC de O, Hallak JEC, Crippa JAS, Nardi AE, et al. Cannabidiol, a *Cannabis sativa* constituent, as an anxiolytic drug. *Rev Bras Psiquiatr*. 2012;34:S104–17.
 59. McAllister SD, Christian RT, Horowitz MP, Garcia A, Desprez PY. Cannabidiol as a novel inhibitor of Id-1 gene expression in aggressive breast cancer cells. *Mol Cancer Ther*. 2007;6(11):2921–7.
 60. Massi P, Vaccani A, Ceruti S, Colombo A, Abbracchio MP, Parolaro D. Antitumor effects of cannabidiol, a nonpsychoactive cannabinoid, on human glioma cell lines. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004;308(3):838–45.
 61. Rojas-Valverde D. Potential role of cannabidiol on sports recovery: A narrative review. *Front Physiol*. 2021;12(August):1–6.
 62. Chesney E, Oliver D, Green A, Sovi S, Wilson J, Englund A, et al. Adverse effects of cannabidiol: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Neuropsychopharmacology*. 2020;45(11):1799–806.
 63. Appendino G, Gibbons S, Giana A, Pagani A, Grassi G, Stavri M, et al. Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa*: A structure-activity study. *J Nat Prod*. 2008;71(8):1427–30.
 64. Pagano E, Iannotti FA, Piscitelli F, Romano B, Lucariello G, Venneri T, et al. Efficacy of combined therapy with fish oil and phytocannabinoids in murine intestinal inflammation. *Phyther Res*. 2021;35(1):517–29.
 65. Baek SH, Kim YO, Kwag JS, Choi KE, Jung WY, Han DS. Boron trifluoride etherate on silica-A modified Lewis acid reagent (VII). Antitumor activity of cannabigerol

- against human oral epitheloid carcinoma cells. *Arch Pharm Res.* 1998;21(3):353–6.
66. Akinshola BE, Chakrabarti A, Onaivi ES. In-vitro and in-vivo action of cannabinoids. *Neurochem Res.* 1999;24(10):1233–40.
 67. Herring AC, Koh WS, Kaminski NE. Inhibition of the cyclic AMP signaling cascade and nuclear factor binding to CRE and κ B elements by cannabiniol, a minimally CNS-active cannabinoid. *Biochem Pharmacol.* 1998;55(7):1013–23.
 68. De Petrocellis L, Ligresti A, Moriello AS, Allarà M, Bisogno T, Petrosino S, et al. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. *Br J Pharmacol.* 2011;163(7):1479–94.
 69. Huizenga MN, Sepulveda-Rodriguez A, Forcelli PA. Preclinical safety and efficacy of cannabidiol for early life seizures. *Neuropharmacology.* 2019;148(January):189–98.
 70. Baker D, Pryce G, Giovannoni G, Thompson AJ. The therapeutic potential of cannabis. *Lancet Neurol.* 2003;2(5):291–8.
 71. Hinz B, Ramer R. Anti-tumour actions of cannabinoids. *Br J Pharmacol.* 2019;176(10):1384–94.
 72. Hammell DC, Zhang LP, Ma F, Abshire SM, McIlwrath SL, Stinchcomb AL, et al. Transdermal cannabidiol reduces inflammation and pain-related behaviours in a rat model of arthritis. *Eur J Pain (United Kingdom).* 2016;20(6):936–48.
 73. Huang Y, Wan T, Pang N, Zhou Y, Jiang X, Li B, et al. Cannabidiol protects livers against nonalcoholic steatohepatitis induced by high-fat high cholesterol diet via regulating NF- κ B and NLRP3 inflammasome pathway. *J Cell Physiol.* 2019;234(11):21224–34.
 74. Tagne AM, Marino F, Legnaro M, Luini A, Pacchetti B, Cosentino M. A novel standardized *Cannabis sativa* L. Extract and its constituent cannabidiol inhibit human polymorphonuclear leukocyte functions. *Int J Mol Sci.* 2019;20(8):1–11.
 75. Ruhl T, Kim BS, Beier JP. Cannabidiol restores differentiation capacity of LPS exposed adipose tissue mesenchymal stromal cells. *Exp Cell Res.* 2018;370(2):653–62.
 76. Couch DG, Cook H, Ortori C, Barrett D, Lund JN, O’Sullivan SE. Palmitoylethanolamide and cannabidiol prevent inflammation-induced hyperpermeability of the human gut in vitro and in vivo-A randomized, placebo-controlled, double-blind controlled Trial. *Inflamm Bowel Dis.* 2019;25(6):1006–18.
 77. Ribeiro A, Ferraz-De-Paula V, Pinheiro ML, Vitoretti LB, Mariano-Souza DP, Quinteiro-Filho WM, et al. Cannabidiol, a non-psychoactive plant-derived cannabinoid, decreases inflammation in a murine model of acute lung injury: Role for the adenosine A_{2A} receptor. *Eur J Pharmacol.* 2012;678(1–3):78–85.
 78. Vuolo F, Petronilho F, Sonai B, Ritter C, Hallak JEC, Zuardi AW, et al. Evaluation of serum cytokines levels and the role of cannabidiol treatment in animal model of asthma. *Mediators Inflamm.* 2015. 1-6;
 79. Friedman D, French JA, Maccarrone M. Safety, efficacy, and mechanisms of action of cannabinoids in neurological disorders. *Lancet Neurol.* 2019;18(5):504–12.
 80. Libro R, Diomedea F, Scionti D, Piattelli A, Grassi G, Pollastro F, et al. Cannabidiol modulates the expression of alzheimer’s disease-related genes in mesenchymal

- stem cells. *Int J Mol Sci.* 2017;18(1):1–19.
81. Esposito G, Scuderi C, Savani C, Steardo L, De Filippis D, Cottone P, et al. Cannabidiol in vivo blunts β -amyloid induced neuroinflammation by suppressing IL-1 β and iNOS expression. *Br J Pharmacol.* 2007;151(8):1272–9.
 82. Scuderi C, Steardo L, Esposito G. Cannabidiol promotes amyloid precursor protein ubiquitination and reduction of beta amyloid expression in SHSY5YAPP+ cells through PPAR γ involvement. *Phyther Res.* 2014;28(7):1007–13.
 83. Kalia L V., Lang AE. Parkinson's disease. *Lancet.* 2015;386(9996):896–912.
 84. Lastres-Becker I, Molina-Holgado F, Ramos JA, Mechoulam R, Fernández-Ruiz J. Cannabinoids provide neuroprotection against 6-hydroxydopamine toxicity in vivo and in vitro: Relevance to Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2005;19(1–2):96–107.
 85. Zuardi AW, Crippa JAS, Hallak JEC, Pinto JP, Chagas MHN, Rodrigues GGR, et al. Cannabidiol for the treatment of psychosis in Parkinsons disease. *J Psychopharmacol.* 2009;23(8):979–83.
 86. Chagas MHN, Zuardi AW, Tumas V, Pena-Pereira MA, Sobreira ET, Bergamaschi MM, et al. Effects of cannabidiol in the treatment of patients with Parkinson's disease: An exploratory double-blind trial. *J Psychopharmacol.* 2014;28(11):1088–92.
 87. Mecha M, Feliú A, Iñigo PM, Mestre L, Carrillo-Salinas FJ, Guaza C. Cannabidiol provides long-lasting protection against the deleterious effects of inflammation in a viral model of multiple sclerosis: A role for A2A receptors. *Neurobiol Dis.* 2013;59:141–50.
 88. Elliott DM, Singh N, Nagarkatti M, Nagarkatti PS. Cannabidiol attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis model of multiple sclerosis through induction of myeloid-derived suppressor cells. *Front Immunol.* 2018;9(AUG):1–12.
 89. Do Val-da Silva RA, Peixoto-Santos JE, Kandratavicius L, de Ross JB, Esteves I, de Martinis BS, et al. Protective effects of cannabidiol against seizures and neuronal death in a rat model of mesial temporal lobe epilepsy. *Front Pharmacol.* 2017;8(MAR):1–15.
 90. Jones NA, Hill AJ, Smith I, Bevan SA, Williams CM, Whalley BJ, et al. Cannabidiol displays antiepileptiform and antiseizure properties in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther.* 2010;332(2):569–77.
 91. Klein BD, Jacobson CA, Metcalf CS, Smith MD, Wilcox KS, Hampson AJ, et al. Evaluation of cannabidiol in animal seizure models by the epilepsy therapy screening program (ETSP). *Neurochem Res.* 2017;42(7):1939–48.
 92. Huntsman RJ, Tang-Wai R, Alcorn J, Vuong S, Acton B, Corley S, et al. Dosage related efficacy and tolerability of cannabidiol in children with treatment-resistant epileptic encephalopathy: Preliminary results of the CARE-E study. *Front Neurol.* 2019;10(JUL):1–9.
 93. Aran A, Eylon M, Harel M, Polianski L, Nemirovski A, Tepper S, et al. Lower circulating endocannabinoid levels in children with autism spectrum disorder. *Mol Autism.* 2019;10(1):1–11.
 94. Zamberletti E, Gabaglio M, Woolley-Roberts M, Bingham S, Rubino T, Parolaro D. Cannabidivarin treatment ameliorates autism-like behaviors and restores hippocampal endocannabinoid system and glia alterations induced by prenatal

- valproic acid exposure in rats. *Front Cell Neurosci.* 2019;13-43.
95. Pretzsch CM, Freyberg J, Voinescu B, Lythgoe D, Horder J, Mendez MA, et al. Effects of cannabidiol on brain excitation and inhibition systems; a randomised placebo-controlled single dose trial during magnetic resonance spectroscopy in adults with and without autism spectrum disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2019;44(8):1398–405.
 96. Barchel D, Stolar O, De-Haan T, Ziv-Baran T, Saban N, Fuchs DO, et al. Oral cannabidiol use in children with autism spectrum disorder to treat related symptoms and Co-morbidities. *Front Pharmacol.* 2019;9(JAN).
 97. Aran A, Cassuto H, Lubotzky A, Wattad N, Hazan E. Brief Report: Cannabidiol-rich cannabis in children with autism spectrum disorder and severe behavioral problems—A retrospective feasibility study. *J Autism Dev Disord.* 2019;49(3):1284–8.
 98. Lötsch J, Weyer-Menkhoff I, Tegeder I. Current evidence of cannabinoid-based analgesia obtained in preclinical and human experimental settings. *Eur J Pain (United Kingdom).* 2018;22(3):471–84.
 99. Toth CC, Jedrzejewski NM, Ellis CL, Frey WH. Cannabinoid-mediated modulation of neuropathic pain and microglial accumulation in a model of murine type I diabetic peripheral neuropathic pain. *Mol Pain.* 2010;6:1–22.
 100. Ward SJ, McAllister SD, Kawamura R, Murase R, Neelakantan H, Walker EA. Cannabidiol inhibits paclitaxel-induced neuropathic pain through 5-HT 1A receptors without diminishing nervous system function or chemotherapy efficacy. *Br J Pharmacol.* 2014;171(3):636–45.
 101. Marková J, Essner U, Akmaz B, Marinelli M, Trompke C, Lentschat A, et al. Sativex[®] as add-on therapy vs. further optimized first-line ANTispastics (SAVANT) in resistant multiple sclerosis spasticity: a double-blind, placebo-controlled randomised clinical trial. *Int J Neurosci.* 2019;129(2):119–28.
 102. Smith LA, Azariah F, Lavender VT, Stoner NS, Bettioli S. Cannabinoids for nausea and vomiting in adults with cancer receiving chemotherapy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015. 16-23.
 103. Fonseca BM, Teixeira NA, Correia-da-Silva G. Cannabinoids as modulators of cell death: Clinical applications and future directions. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 2017;173:63–88.
 104. Fraguas-Sánchez AI, Martín-Sabroso C, Torres-Suárez AI. Insights into the effects of the endocannabinoid system in cancer: a review. *Br J Pharmacol.* 2018;175(13):2566–80.
 105. Munson AE, Harris LS, Friedman MA, Dewey WL, Carchman RA. Antineoplastic activity of cannabinoids. *J Natl Cancer Inst.* 1975;55(3):597–602.
 106. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394–424.
 107. Dumitru CA, Sandalcioglu IE, Karsak M. Cannabinoids in glioblastoma therapy: New applications for old drugs. *Front Mol Neurosci.* 2018;11(May):1–7.
 108. Nabissi M, Morelli MB, Amantini C, Liberati S, Santoni M, Ricci-Vitiani L, et al. Cannabidiol stimulates AML-1a-dependent glial differentiation and inhibits glioma stem-like cells proliferation by inducing autophagy in a TRPV2-dependent manner. *Int J Cancer.* 2015;137(8):1855–69.

109. Singer E, Judkins J, Salomonis N, Matlaf L, Soteropoulos P, McAllister S, et al. Reactive oxygen species-mediated therapeutic response and resistance in glioblastoma. *Cell Death Dis.* 2015;6(1):e1601-11.
110. Hernán Pérez de la Ossa D, Lorente M, Gil-Alegre ME, Torres S, García-Taboada E, Aberturas M del R, et al. Local delivery of cannabinoid-loaded microparticles inhibits tumor growth in a murine xenograft model of glioblastoma multiforme. *PLoS One.* 2013;8(1):2–9.
111. Massi P, Valenti M, Vaccani A, Gasperi V, Perletti G, Marras E, et al. 5-Lipoxygenase and anandamide hydrolase (FAAH) mediate the antitumor activity of cannabidiol, a non-psychoactive cannabinoid. *J Neurochem.* 2008;104(4):1091–100.
112. Torres S, Lorente M, Rodríguez-Fornés F, Hernández-Tiedra S, Salazar M, García-Taboada E, et al. A combined preclinical therapy of cannabinoids and temozolomide against glioma. *Mol Cancer Ther.* 2011;10(1):90–103.
113. Scott KA, Dalgleish AG, Liu WM. The combination of cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol enhances the anticancer effects of radiation in an orthotopic murine glioma model. *Mol Cancer Ther.* 2014;13(12):2955–67.
114. Scott KA, Dennis JL, Dalgleish AG, Liu WM. Inhibiting heat shock proteins can potentiate the cytotoxic effect of cannabidiol in human glioma cells. *Anticancer Res.* 2015;35(11):5827–37.
115. Likar R, Koestenberger M, Stultschinig M, Nahler G. Concomitant treatment of malignant brain tumours with CBD - A case series and review of the literature. *Anticancer Res.* 2019;39(10):5797–801.
116. Iacoviello L, Bonaccio M, de Gaetano G, Donati MB. Epidemiology of breast cancer, a paradigm of the “common soil” hypothesis. *Semin Cancer Biol.* 2021;72(February):4–10.
117. Kisková T, Mungenast F, Suváková M, Jäger W, Thalhammer T. Future aspects for cannabinoids in breast cancer therapy. *Int J Mol Sci.* 2019;20(7).
118. Viale G. The current state of breast cancer classification. *Ann Oncol.* 2012;23(SUPPL. 10).
119. Dobovišek L, Krstanović F, Borštnar S, Debeljak N. Cannabinoids and hormone receptor-positive breast cancer treatment. *Cancers (Basel).* 2020;12(3):1–12.
120. Ligresti A, Moriello AS, Starowicz K, Matias I, Pisanti S, De Petrocellis L, et al. Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;318(3):1375–87.
121. McAllister SD, Murase R, Christian RT, Lau D, Zielinski AJ, Allison J, et al. Pathways mediating the effects of cannabidiol on the reduction of breast cancer cell proliferation, invasion, and metastasis. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;129(1):37–47.
122. Elbaz M, Nasser MW, Ravi J, Wani NA, Ahirwar DK, Zhao H, et al. Modulation of the tumor microenvironment and inhibition of EGF/EGFR pathway: Novel anti-tumor mechanisms of cannabidiol in breast cancer. *Mol Oncol.* 2015;9(4):906–19.
123. Ring A, Nguyen C, Smbatyan G, Tripathy D, Yu M, Press M, et al. CBP/B-catenin/FOXO1 is a novel therapeutic target in triple negative breast cancer. *Cancers (Basel).* 2018;10(12):33459–70.
124. Fraguas-Sánchez AI, Fernández-Carballido A, Simancas-Herbada R, Martín-

- Sabroso C, Torres-Suárez AI. CBD loaded microparticles as a potential formulation to improve paclitaxel and doxorubicin-based chemotherapy in breast cancer. *Int J Pharm.* 2020;574:118916.
125. Aviello G, Romano B, Borrelli F, Capasso R, Gallo L, Piscitelli F, et al. Chemopreventive effect of the non-psychoactive phytocannabinoid cannabidiol on experimental colon cancer. *J Mol Med.* 2012;90(8):925–34.
 126. Honarmand M, Namazi F, Mohammadi A, Nazifi S. Can cannabidiol inhibit angiogenesis in colon cancer? *Comp Clin Path.* 2019;28(1):165–72.

