



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Utilização de *Cannabis sativa* L. em doenças neurodegenerativas

Matilde Rodrigues Gil

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob a orientação:

Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel

2023/2024



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Utilização de *Cannabis sativa* L. em doenças neurodegenerativas

Matilde Rodrigues Gil

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob a orientação:

Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel

20203/2024

Utilização de *Cannabis sativa* L. em doenças neurodegenerativas

Declaração de autoria de trabalho

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.

[Assinatura do aluno]

Copyright© 2024 Matilde Rodrigues Gil

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

Em primeiro lugar, expresso a minha mais profunda gratidão aos meus pais, Carlos e Célia, pelo amor incondicional e apoio inabalável. A força que sempre me transmitiram sem nunca duvidarem da minha capacidade para alcançar qualquer objetivo, foi fundamental. Obrigada por acreditarem em mim mesmo nos momentos de dúvida, pela paciência infinita e por me terem proporcionado esta oportunidade, colocando sempre o meu bem-estar em primeiro lugar. São, para mim, um exemplo de luta, resiliência e dedicação.

À minha querida avó Dolores, agradeço do fundo do coração por todas as velinhas acesas a pensar em mim. O seu carinho e sabedoria foram sempre uma fonte de inspiração e conforto.

Ao meu irmão Martim, pela amizade, companhia e apoio constante. A energia leve e tranquila que sempre transmitiu foi essencial para quebrar os momentos de preocupação, permitindo-me manter a determinação ao longo desta jornada.

À restante família, obrigada pelo carinho e apoio, ainda que à distância, contribuíram para que nunca me faltasse motivação ao longo deste percurso.

Agradeço às minhas amigas por estarem ao meu lado nos bons e maus momentos. Cada palavra de incentivo, gesto de carinho e momentos de partilha foram uma âncora, sendo a minha casa durante cinco anos.

Por último, mas não menos importante, o meu profundo agradecimento à Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel. A sua disponibilidade, conselhos e orientação ao longo deste processo foram fundamentais. A sua sabedoria e profissionalismo são, sem dúvida, um exemplo a seguir.

De coração, muito obrigada a todos!

Resumo

A espécie *Cannabis sativa* L. apresenta um histórico de utilização muito antigo. A canábida e os seus derivados contêm mais de 500 compostos, desde canabinóides, terpenos e flavonóides.

Os recetores canabinóides 1 (CB1), distribuídos principalmente no sistema nervoso central (SNC), e 2 (CB2), encontrados nomeadamente em tecidos e células imunes, juntamente com os seus ligandos endógenos (os endocanabinóides) e as respetivas enzimas metabólicas formam o sistema endocanabinóide. Este sistema é responsável por regular inúmeras funções fisiológicas do organismo, sendo cada vez mais importante como potencial alvo terapêutico para diversas patologias. Os endocanabinóides mais estudados são a anandamida (AEA) e 2-araquidonilglicerol (2-AG). Os fitocanabinóides principais são Δ -9-tetra-hidrocanabinol (Δ^9 -THC) e o canabidiol (CBD).

Diversos estudos têm demonstrado o papel dos fitocanabinóides em múltiplas atividades farmacológicas, como a redução da inflamação, modulação da dor, atividade antiepilética, efeito neuroprotetor, antioxidante, entre outros.

A neuroinflamação é considerada um processo crítico no desenvolvimento de diversas patologias, incluindo neurodegenerativas. Embora diversas estratégias terapêuticas tenham sido exploradas, nenhuma forneceu resultados definitivos. Evidências indicam que os canabinóides podem oferecer novas opções de tratamento em diversas doenças, como Doença de Parkinson, Doença de Alzheimer ou Esclerose Lateral Amiotrófica.

O potencial terapêutico da espécie *C. sativa* é conhecido, muitos dos efeitos foram demonstrados em estudos, clínicos e pré-clínicos, com o objetivo de verificar as vantagens na utilização de alguns metabolitos presentes nesta espécie, no entanto, pouco se sabe acerca dos seus verdadeiros benefícios, tanto a longo, como a curto prazo. Associado ao seu uso crónico são relatados diversos impactos prejudiciais à saúde humana, como psicose, esquizofrenia e doenças mentais. É necessária a fomentação de mais estudos para que as evidências científicas relativamente a *C. Sativa* se tornem mais robustas.

Palavras-chave: *C. sativa*.; Canabidiol; Canabinóide; Δ^9 -tetra-hidrocanabinol; Doença Neurodegenerativa; Neuroproteção.

Abstract

The species *Cannabis sativa* L. has a very long history of use. Cannabis and its derivatives contain more than 500 compounds, including cannabinoids, terpenes and flavonoids.

Cannabinoid receptors 1 (CB1), distributed mainly in the central nervous system (CNS), and 2 (CB2), found mainly in tissues and immune cells, together with their endogenous ligands (the endocannabinoids) and their metabolic enzymes form the endocannabinoid system. This system is responsible for regulating numerous physiological functions in the body and is increasingly important as a potential therapeutic target for various pathologies. The most studied endocannabinoids are anandamide (AEA) and 2-arachidonylglycerol (2-AG). The main phytocannabinoids are Δ -9-tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC) and cannabidiol (CBD).

Several studies have demonstrated the role of phytocannabinoids in multiple pharmacological activities, such as reducing inflammation, modulating pain, antiepileptic activity, neuroprotective and antioxidant effects, among others.

Neuroinflammation is considered a critical process in the development of various pathologies, including neurodegenerative diseases. Although various therapeutic strategies have been explored, none have provided definitive results. Evidence indicates that cannabinoids may offer new treatment options in various diseases, such as Parkinson's Disease, Alzheimer's Disease or Amyotrophic Lateral Sclerosis.

The therapeutic potential of the *C. sativa* species is well known; many of the effects have been demonstrated in clinical and pre-clinical studies, with the aim of verifying the advantages of using some of the metabolites present in this species; however, little is known about their true benefits, both in the long and short term. Associated with its chronic use, several harmful impacts on human health have been reported, such as psychosis, schizophrenia and mental illness. More studies need to be carried out so that the scientific evidence on *C. sativa* becomes more robust.

Keywords: *C. sativa*; Cannabidiol; Cannabinoid; Δ 9-tetrahydrocannabinol; Neurodegenerative Disease; Neuroprotection.

Índice

<i>Agradecimentos</i>	<i>i</i>
<i>Resumo</i>	<i>iii</i>
<i>Abstract</i>	<i>v</i>
<i>Índice de figuras</i>	<i>xi</i>
<i>Índice de quadros</i>	<i>xiii</i>
<i>Lista de abreviaturas e acrónimos</i>	<i>xv</i>
1 Introdução	1
1.1 História de <i>Cannabis sativa</i>	2
1.2 Aspetos Botânicos de <i>C. sativa</i>	5
2 Canábis	8
2.1 Operações envolvidas na obtenção de canabinóides	8
2.1.1 Secagem.....	9
2.1.2 Extração	10
2.2 Biossíntese de Metabolitos	13
2.3 Canabinóides	16
2.3.1 Canabinóides endógenos	16
2.3.2 Fitocanabinóides	19
2.3.3 Canabinóides sintéticos	21
2.4 Terpenos e Flavonóides	22
2.4.1 Efeito “Entourage”	26
3 Aspetos Farmacológicos	27
3.1 Farmacodinâmica dos Canabinóides	27
3.1.1 Sistema Endocanabinóide.....	27
3.1.2 Distribuição dos Recetores Canabinóides	28
3.1.3 Mecanismo de ação dos Canabinóides	30
3.2 Farmacocinética dos Canabinóides	33
3.2.1 Absorção.....	33
3.2.2 Distribuição	35

3.2.3	Metabolismo	35
3.2.4	Excreção	36
4	<i>Atividades Biológicas dos Canabinóides.....</i>	37
4.1	(-) - Delta -9- <i>trans</i> -tetra-hidrocanabinol (Δ^9 -THC).....	37
4.2	Canabigerol.....	39
4.3	Canabicromeno.....	40
4.4	Canabidiol.....	41
4.5	Canabinol.....	42
4.6	Canabidivarina.....	43
5	<i>Aplicações de Cannabis sativa</i>	44
5.1	Alimentação.....	45
5.2	Estimulante do apetite	46
5.3	Doenças Dermatológicas	46
5.4	Utilização nas Doenças Neurodegenerativas.....	48
5.4.1	Doença de Parkinson	49
5.4.1.1	Sistema Endocanabinóide na DP.....	50
5.4.1.1.1	Stress Oxidativo.....	52
5.4.1.1.2	Sintomas Motores e Sintomas não Motores	52
5.4.1.1.3	Neuroproteção	53
5.4.2	Doença de Alzheimer	55
5.4.2.1	Sistema Endocanabinóide na DA	56
5.4.2.1.1	Estudos clínicos e pré-clínicos	56
5.4.2.2	Fitocanabinóides na DA	56
5.4.3	Esclerose Lateral Amiotrófica	58
5.4.3.1	Sistema Endocanabinóide na ELA	59
5.4.3.2	Fitocanabinóides na ELA	61
5.4.3.2.1	Estudos pré-clínicos.....	61
5.4.3.2.2	Estudos clínicos	62
6	<i>Canábis medicinal em Portugal.....</i>	63
6.1	Autorização e Comercialização em Portugal.....	65

7	<i>Conclusão</i>	67
8	<i>Perspetivas Futuras</i>	69
9	<i>Referências bibliográficas</i>	71

Índice de figuras

Figura 1.1: Flores de <i>C. sativa</i> L.; (A) Flores masculinas; (B) Flores femininas.	6
Figura 1.2: Tricomas de <i>C. sativa</i> L.	6
Figura 1.3: Diferentes estruturas de tricomas de <i>C. sativa</i>	7
Figura 2.1: Método de “secagem ao ar” da espécie <i>C. sativa</i>	9
Figura 2.2: Vias biossintéticas dos canabinóides	15
Figura 2.3: Fórmula estrutural dos endocanabinóides.....	17
Figura 2.4: Fórmula estrutural do fitocanabinóide (tetra-hidrocanabinol/ Δ^9 -THC)....	19
Figura 2.5: Fórmula estrutural do canabinóide sintético (agonista JWH-018).	21
Figura 2.6: Estrutura química de flavonóides prenilados presentes na espécie do género <i>Cannabis</i>	26
Figura 3.1: Mecanismo de sinalização intracelular através da ativação de recetores CB1 e CB2..	31
Figura 3.2: Esquema simplificado representativo da transmissão da sinalização sináptica retrógrada mediada por endocanabinóides.	32
Figura 4.1: Estrutura química do canabigerol.	39
Figura 4.2: Estrutura química do canabicromeno.	40
Figura 4.3: Estrutura química do canabidiol.	41
Figura 4.4: Estrutura química do canabinol, CBN (a) e da sua forma ácida, CBNA (b).	42
Figura 4.5: Estrutura química da canabidivarina (CBDV).....	44
Figura 5.1: Potencial terapêutico dos fitocanabinóides na doença de Parkinson.....	51
Figura 5.2: Mecanismos celulares e moleculares pelos quais os canabinóides podem fornecer neuroproteção na ELA..	60

Índice de quadros

Quadro 2.1: Descrição de métodos convencionais e alternativos de extração.....	12
Quadro 2.2: Resumo das propriedades farmacológicas e estudos pré-clínicos dos principais terpenos presentes na espécie do género <i>Cannabis</i> com a respetiva estrutura química.	23
Quadro 3.1: Tempos de deteção de ácido Δ^9 -THC na urina.	37

Lista de abreviaturas e acrónimos

2-AG: 2-araquidonoilglicerol

5-HT1A, do inglês *5-hydroxytryptamine receptor 1A*: Recetor de serotonina ou recetor da família de 5-hidroxitriptamina 1A

AA: Ácido araquidónico

AAE1, do inglês *acyl-activating enzyme*: Enzima Ativadora de Acilo

ABHD6, do inglês *α/β -Hydrolase Domain-Containing 6*: Hidrólase de domínio α/β 6

ACh: Acetilcolina

AC: Adenilato Ciclase

ACM: Autorização de Colocação no Mercado

AEA: *N*-araquidonoiletanolamida ou Anandamida

AIM: Autorização de Introdução no Mercado

AMP cíclico (AMPc): Adenosina 3',5'-monofosfato ciclício

APP, do inglês *Amyloid Precursor Protein*: Proteína Percursora Amiloide

A β : β -Amilóide

BCP: β -Cariofileno

CB1: Recetor canabinóide do tipo 1

CB2: Recetor canabinóide do tipo 2

CBC: Canabicromeno

CBCA, do inglês *cannabichromenic acid*: Ácido Canabicrómico

CBD: Canabidiol

CBDA, do inglês *cannabidiolic acid*: Ácido Canabidiólico

CBDV: Canabidivarina

CBG: Canabigerol

CBGA, do inglês *cannabigerolic acid*: Ácido Canabigerólico

CBN: Canabinol

CBNA, do inglês *cannabinolic acid*: Ácido Canabinólico

cGMP, do inglês *cyclic guanosine monophosphate*: Guanosina Monofosfato Cíclica

CFL-A: Canflavina A

CFL-B: Canflavina B

CFL-C: Canflavina C

CHMP, do inglês *Committee for Medicinal Products for Human Use*: Comité da Medicamentos para Uso Humano

CO₂: Dióxido de Carbono

COX-2: Cicloxigenase-2

CYP450: Citocromo P450

DA: Doença de Alzheimer

DAG, do inglês *diacylglycerol*: Diacilglicerol

DAGL- α , do inglês *diacylglycerol lipase α* : Diacilglicerol lípase α

DAGL- β , do inglês *diacylglycerol lipase β* : Diacilglicerol lípase β

DII: Doenças Inflamatórias Intestinais

DMAPP, do inglês *dimethylallyl pyrophosphate*: Dimetilalil difosfato

DP: Doença de Parkinson

Δ 9-THC: Δ -9-tetrahidrocanabinol

ECS, do inglês *Endocannabinoid System*: Sistema Endocanabinóide

ELA: Esclerose Lateral Amiotrófica

EMA, do inglês *European Medicines Agency*: Agência Europeia de Medicamentos

EtNH₂, do inglês *ethanolamine*: Etanolamina

FAAH, do inglês *fatty acid amide hydrolase*: Hidrolase da amida de ácidos gordos

GABA: Ácido γ -aminobutírico

Gi/o: Proteína G inibitórias

Gq/11: Proteína G da subfamília q/11

GOT, do inglês *olivetolate geranyltransferase*: Olivetolato geranyltransferase

GPCRs, do inglês *G protein-coupled receptors*: Recetores acoplados à proteína G

GPP, do inglês *geranyl pyrophosphate*: Geranilo difosfato

GPR55, do inglês *G protein-coupled receptor 55*: Recetor 55 acoplado a proteína G

GPR6, do inglês *G protein-coupled receptor 6*: Recetor 6 acoplado a proteína G

GPS, do inglês *geranylpyrophosphate synthase*: Geranyl-difosfato sintase

GSK-3 β : Glicogénio sintase cinase 3 β

IL-1 β , do inglês *interleukin 1 β* : Interleucina 1 β

IL-6, do inglês *interleukin-6*: Interleucina 6

IL-8, do inglês *interleukin-8*: Interleucina 8

INFARMED, I.P.: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

iNOS, do inglês *inducible nitric oxide synthase*: Óxido nítrico sintase induzível

IPP, do inglês *isopentenyl diphosphate*: Isopentenil difosfato

K10, do inglês *keratin 10*: Queratina 10

LIDs, do inglês *levodopa-induced dyskinesias*: Discinesia induzida por levodopa

LPS: Lipopolissacarídeo

MAE, do inglês *microwave-assisted extraction* – Extração Assistida por Micro-ondas

MAGL do inglês, *monoacylglycerol lipase*: Lipase de monoacilglicerol

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

MAPT, do inglês *microtubule-associated protein tau*- Proteína tau associada a microtúbulos

MEP, do inglês *methylerythritol 4-phosphate pathway*: Via isoprenóide dependente de metileritritol-4- fosfato

NAAA, do inglês *N-acyl ethanolamine acid amidase*: Amidase ácida de *N*-acil etanolamina

NAPE, do inglês *N-acyl phosphatidylethanolamine*: *N*-acil fosfatidiletanolamina

NAPE-PLD, do inglês *N-arachidonylphosphatidylethanolamine phospholipase D*: Enzima catalisadora fosfolipase D específica da *N*-acil-fosfatidiletanolamina

NF- κ B, do inglês *nuclear factor κ -light-chain-enhancer of activated B cells*: Fator nuclear de células B ativadas

NFTs, do inglês *neurofibrillary tangles*: Emaranhados Neurofibrilares

NO, do inglês nitrogen monoxide: Monóxido de nitrogénio

OAC, do inglês *olivetolic acid cyclase*: Ácido Olivetólico ciclase

OLA, do inglês *olivetolic acid*: Ácido Olivetólico

OLS, do inglês *olivetol synthase*: Olivetol Sintase

ONU: Organização das Nações Unidas

PKA, do inglês *protein kinase A*: Proteína cinase A dependente de AMP cíclico

PLC, do inglês *phospholipase C*: Fosfolipase C

PPARs do inglês, *peroxisome proliferator-activated receptor*: Recetores ativados por proliferador do peroxissoma

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

PUFA, do inglês *polyunsaturated fatty acids*: Ácidos gordos poli-insaturados ω -6 e ω -3

ROS do inglês, *reactive oxygen species*: Espécies Reativas de Oxigénio

SFE, do inglês *supercritical fluid extraction*: Extrção com Fluido Supercrítico

SNC: Sistema Nervoso Central

SNP: Sistema Nervoso Periférico

SNpc: *Substância nigra pars compacta*

SOD1: Superóxido Dismutase

TDAH: Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade

TEA: Transtorno do Espectro Autista

THCA, do inglês *tetrahydrocannabinolic acid*: Ácido Tetrahidrocanabinólico

THCV, do inglês *tetrahydrocannabivarin*: Tetra-hidrocanabivarina

TNF- α , do inglês *tumor necrosis factor α* : Fator de necrose tumoral α

TRP, do inglês *transient receptor potential*: Recetor de Potencial Transitório

TRPA1, do inglês *transient receptor potential cation channel subfamily A (Ankyrin) member 1*: Recetores de Potencial Transitório de canal catiónico subfamília A (Anquirina) membro 1

TRPM8, do inglês *transient receptor potential cation channel subfamily M (Melastatin) member 8*: Recetores de Potencial Transitório de canal catiónico subfamília M (Melastatina) membro 8

TRPV1, do inglês *transient receptor potential cation channel subfamily V (Vanilloid) member 1*: Recetores de Potencial Transitório de canal catiónico subfamília V (Vanilóide) membro 1

UAE, do inglês *ultrasonic-assisted extraction*: Extração Assistida por Ultrassom

UE: União Europeia

UV-B: Raios Ultravioleta B

1 Introdução

Cannabis sativa L., uma planta nativa da Ásia Central, tem sido alvo de um interesse científico acrescido devido às suas propriedades tão versáteis (1).

Cannabis sativa (cânhamo, cânhamo-europeu, cânhamo-ordinário, marijuana e haxixe, *ao longo do texto pode também surgir a designação canábis*) é uma planta anual e, como tal, normalmente completa o seu ciclo de vida no período de um ano (2). Apesar de no início do século XX ter sido estabelecida como ilícita, é a droga recreativa mais consumida no mundo (3). Diversos países implementaram leis e regulamentações para a utilização de medicamentos à base do cânhamo, (4), como é o caso de Portugal.

Quimicamente, é possível encontrar na espécie *C. sativa* compostos de azoto como proteínas e aminoácidos, mas também hidrocarbonetos, terpenos e açúcares (3). Os compostos ativos presentes nesta espécie vegetal com interesse terapêutico são canabinóides, nomeadamente fitocannabinóides (5). Independentemente da origem ou da sua estrutura, o termo canabinóide refere-se às substâncias químicas que se ligam aos recetores do sistema nervoso central, periférico e células do sistema imunológico (6). Possuem propriedades farmacológicas (anti-inflamatória, antidiabética, neuroprotetora, anticancerígena, antioxidante, antimicrobiana e antifúngica) e têm sido alvo de diversos estudos, possibilitando o aparecimento de novas terapêuticas para diversas doenças (4,7).

Os fitocannabinóides mais estudados são o delta-9-tetra-hidrocanabinol (Δ^9 -THC) e canabidiol (CBD), maioritariamente responsáveis pelos efeitos biológicos da planta. Estudos demonstram que o CBD, o canabinóide não psicoativo mais abundante na planta, não é tóxico, apresenta efeitos ansiolíticos, mas também potencial terapêutico em condições como epilepsia, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, renais e cancro (3,7). O Δ^9 -THC é caracterizado por apresentar efeitos psicoativos e que, apesar de manifestar efeitos terapêuticos, também tem potencial de gerar dependência (8).

Mais tarde, em 1980, a descoberta dos recetores canabinóides dos tipos 1 (CB1) e 2 (CB2), em conjunto com o conhecimento de agonistas endógenos destes recetores permitiu estabelecer o sistema endocannabinóide (ECS, do inglês *endocannabinoid system*), associado, desde então, a vários processos fisiológicos e patológicos (8).

A presente monografia abordará a atividade biológica de alguns canabinóides presentes na espécie *C. sativa*, bem como a sua aplicação terapêutica em algumas patologias, como doenças neurodegenerativas, de modo a entender melhor os seus possíveis benefícios terapêuticos.

1.1 História de *Cannabis sativa*

Cannabis sativa L., uma planta cultivada desde a antiguidade, principalmente na Ásia Central (9), é descrita em muitas farmacopeias. Para além da sua utilização como fonte de fibra e alimento, também é relatado o seu uso para fins ritualísticos ou medicinais nas sociedades mais antigas, como a China ou Índia (10,11).

O imperador Shen Nung, considerado o pai da medicina chinesa, instruiu as pessoas sobre o valor médico de diversas plantas, (10) sendo responsável pelo registo “PenT` sao Ching” (9), a mais antiga farmacopeia chinesa conhecida, onde foi documentada a primeira evidência do uso de cânhamo na medicina tradicional. Esta espécie seria utilizada para tratamento de dores reumáticas, obstipação, malária e alterações ginecológicas (11). No entanto, são poucas as provas nos antigos textos chineses sobre as propriedades psicoativas da planta, com exceção de uma referência na farmacopeia chinesa aos efeitos da utilização excessiva de sementes de cânhamo, alertando para o facto de originar alucinações com demónios ou permitir a comunicação com espíritos (10,11).

Foi durante o século XIX que se iniciaram os estudos das propriedades farmacológicas e toxicológicas de *C. sativa* por William Brooke O'Shaughnessy, médico responsável por publicar os resultados das suas observações sobre esta espécie em 1839 e pioneiro na aplicação do método experimental no estudo do cânhamo (10,12). Descobriu o efeito tóxico da espécie, descreveu várias preparações tradicionais da Índia e relatou o facto do aspeto e do teor de substâncias psicoativas ser mais elevado nas variedades Orientais (*C. indica*) quando comparadas com as europeias (*C. sativa*) (10,12,13). Ao retornar à Europa, difundiu o conhecimento sobre os inúmeros benefícios farmacológicos entre a comunidade médica, aumentando o interesse pela planta e a sua resina (13).

Na Índia o uso de *C. sativa* espalhou-se rapidamente, principalmente por ser considerada uma fonte de felicidade capaz de suscitar sentimentos de alegria e liberdade, mas também

muito usada em rituais religiosos (5). Tal como é descrito em textos de medicina ayurveda, a planta também seria utilizada como analgésico, anestésico, antiparasitário, diurético ou estimulante de apetite. (10,14).

O médico francês Jacques-Joseph Moreau de Tours viajou pelo médio oriente em 1836 e 1840, foi responsável por fornecer evidências da entrada de *C. sativa* na sociedade ocidental moderna (11). Usou haxixe pela primeira vez e efetuou experiências em si mesmo, percebendo que a planta causava felicidade, mas simultaneamente distorções temporais e desorganização de ideias, permitiu levantar a hipótese de que as sensações induzidas pelo cânhamo poderiam provocar alucinações e delírios em indivíduos psicóticos (11,12).

Mais tarde, J. Russel Reynolds, médico britânico, considerou *C. sativa* muito útil numa diversidade de doenças, como nevralgia facial, enxaqueca, dismenorreia ou parestesias. Resumiu mais de 30 experiências com a espécie vegetal na prestigiada revista médica *The Lancet*, mesmo antes do seu princípio ativo ser isolado e identificado, considerando a sua importância no tratamento de patologias dolorosas (12,15).

Atualmente são três as convenções da ONU (Organização das Nações Unidas), assinadas por todos os estados-membros da UE (União Europeia), que descrevem o controlo, produção, comercialização e posse de cerca de 300 substâncias psicoativas. A classificação com base no risco de abuso e potencial terapêutico, resultante das convenções de 1961 e 1971, permitiu impor a necessidade de controlo de exportação e de importação (16).

Em 1964, Mechoulam e Gaoni determinaram pela primeira vez a estrutura do Δ^9 -THC, principal fitocanabinóide psicoativo. Raphael Mechoulam conseguiu obter 5 kg de *C. sativa* apreendida da polícia, separar e identificar um dos compostos como psicoativo, o Δ^9 -THC. Este passo levou ao desenvolvimento de investigações no campo do ECS. Os enormes avanços nesta área culminaram no debate sobre a legalização do cânhamo e na confirmação da limitação do conhecimento científico nesta área (12).

Ao longo do séc. XX, foram vários os obstáculos que restringiram o uso do cânhamo, especialmente nos Estados Unidos, sendo esta planta colocada no regime de controlo mais restrito em conjunto com a heroína (12).

Em Portugal, esta planta chega pela primeira vez em 1974. A atmosfera de liberdade, otimismo e idealismo após a Revolução dos Cravos, 25 de Abril do mesmo ano, levou à existência da conjuntura ideal para a abertura do consumo do cânhamo-indiano, cuja disponibilidade aumentara ainda mais com o regresso dos contingentes militares. A canábis, segundo diversos estudos epidemiológicos nacionais realizados ao longo dos anos em diferentes contextos, tem surgido sempre como a droga com maior prevalência de consumo (17).

A Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED, I.P.), autoridade reguladora de medicamentos, preparações e substâncias à base da planta canábis, tem um papel central na elaboração e aplicação do quadro regulamentar. A legislação referente a estupefacientes e a psicotrópicos, decorrentes, respetivamente, das convenções das nações unidas de 1961 e 1971, permitiu a elaboração da legislação nacional e o aumento do interesse na instalação de atividades relacionadas com o cultivo e produção de canábis medicinal (18).

Em 2018 foi aprovada, pela assembleia da república, a lei que regula medicamentos e preparações à base de canábis, incluindo a autorização de colocação no mercado (ACM), prescrição e dispensa em farmácia, a qual foi posteriormente regulamentada (18). Desta forma, o Decreto-Lei n.º 8/2019, de 15 de janeiro, tem como base a análise com maior pormenorização de diversos programas, estabelecendo as regras de que depende a utilização de canábis para fins medicinais em Portugal, criadas e enquadradas com fundamento nas existentes em outros Estados Membros, nomeadamente na Dinamarca, Holanda e Itália, com a finalidade de conceder autorizações para o exercício de atividades relacionadas com a canábis, medicamentos e preparações à base da mesma. O surgimento de novas normas possibilitou o acesso dos doentes a terapêuticas que anteriormente não tinham previsão legal (19).

1.2 Aspetos Botânicos de *C. sativa*

A espécie *C. sativa* L., também denominada muitas vezes de marijuana, haxixe, cânhamo, cânhamo-europeu, cânhamo-ordinário, é uma planta anual, com caules eretos, pertencente à ordem Urticales e à família *Cannabiceae* (2,9,20). A sua época de crescimento dura entre quatro e seis meses, sendo uma planta que cresce vigorosamente em locais ensolarados, com solo leve e bem drenado, amplos nutrientes e água, podendo crescer até aos 5 metros de altura quando proporcionadas as condições ambientais adequadas (21,22). A espécie apresenta folhas palmadas, linear-lanceoladas, geralmente compostas por cinco a sete folíolos, com margens serrilhadas (9).

C. sativa é angiosperma dicotiledónea e normalmente dióica, ou seja, as flores masculinas e femininas desenvolvem-se em plantas separadas, e o género de cada planta é anatomicamente indistinguível antes da floração (21,23). A flor que apresenta apenas pistilos é conhecida como flor feminina, sendo aquelas que possuem apenas estames são conhecidas como flores masculinas (23). É uma planta alógama e anemófila, polinizada pelo vento, dependente das correntes de ar para que ocorra o transporte de grãos de pólen das plantas masculinas para as femininas sendo, portanto, a polinização aberta responsável pela existência de certos graus de hibridação entre populações (22,24). Desta forma, a propagação de plantas uniformes é um desafio para a indústria do cânhamo uma vez que se encontra dependente da polinização cruzada para produção de sementes (25).

As flores masculinas e femininas diferem no seu desenvolvimento, as flores masculinas não possuem pétalas, geralmente contêm cinco tépalas e cinco anteras responsáveis por produzir o pólen (23), com estames proeminentes que ficam pendurados em aglomerados formados por pequenos botões de flores individuais soltos ao longo de um ramo vertical sem folhas. As flores femininas permanecem agrupadas em cachos compactos e eretos (22), com pequenos folíolos na base de cada folha e são circundadas por brácteas, órgão foliáceo que não realiza fotossíntese e protege as flores, ricas em pêlos glandulares que contêm resina (2,21) (Figura 1.1). As plantas masculinas interrompem a libertação de pólen após 2 a 4 semanas, geralmente iniciam um processo de envelhecimento acelerado logo após este processo e acabam por morrer mesmo antes das sementes das plantas femininas amadurecem. (21,26).



Figura 1.1: Flores de *C. sativa* L.; (A) Flores masculinas; (B) Flores femininas. *Adaptado de (9).*

Cannabis sativa é uma planta herbácea, capaz de produzir metabolitos secundários quimicamente ativos, como alcalóides, flavonóides, terpenóides e canabinóides. Os últimos assumem o papel de classe de compostos com maior atividade, são terpenofenólicos e encontram-se principalmente acumulados na cavidade dos tricomas das flores femininas (Figura 1.2). Os tricomas são protuberâncias glandulares epidérmicas que cobrem as folhas, brácteas e caules da planta, que contêm metabolitos secundários, terpenofenólicos e outros terpenos, e que são mais abundantes na superfície da inflorescência da canábis (9,27).



Figura 1.2: Tricomas de *C. sativa* L. *Adaptado de (9).*

Os tricomas podem ser classificados com base na sua morfologia de superfície: bulbosos; sesséis e pedunculados (Figura 1.3). Os tricomas glandulares pedunculados são conhecidos por serem constituídos por células secretoras ricas em canabinóides e monoterpenos (23).

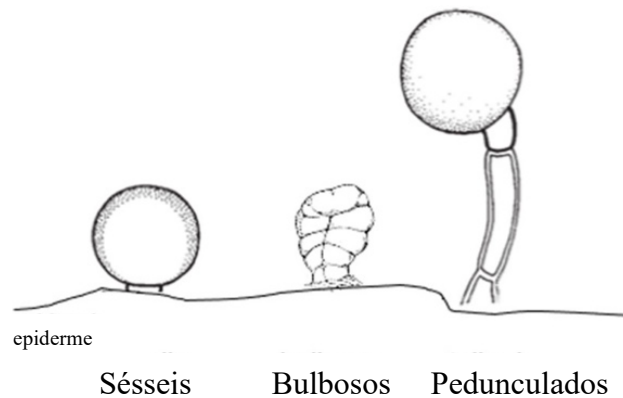


Figura 1.3: Diferentes estruturas de tricomas de *C. sativa*. Adaptado de (23).

O conteúdo de fitocanabinóides é influenciado por diversos fatores ambientais, tais como temperatura, humidade, radiação, nutrientes e parasitas do solo, em que as chuvas escassas e a elevada radiação ultravioleta aumentam os níveis de componentes psicoativos (9).

Em consequência das crónicas de viajantes das Índias, surgiu a discussão da existência de tipos distintos de *Cannabis* com base no tamanho, forma e teor de resina. Schulte e Anderson descreveram três espécies: *Cannabis sativa* Linnaeus (planta alta com pequenas ramificações), *Cannabis indica* Lamarck (planta baixa, cónica ou piramidal com densas ramificações), e *Cannabis ruderalis* Janisch (planta muito pequena e geralmente não ramificada) (9,28).

É considerada pela maioria dos botânicos uma planta monotípica, ou seja, ocorre como uma única espécie, apesar de existirem argumentos para a existência de uma natureza politípica. O modelo monotípico argumenta que existe apenas uma espécie do género *Cannabis* com diferentes subespécies, enquanto o modelo politípico sugere dentro do género a existência de várias espécies: *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* e *Cannabis ruderalis* (20). O consenso atual é que *C. sativa* e *C. indica* não devem ser classificadas

como espécies diferentes, considerando-a uma planta monotípica e que consiste em apenas uma espécie altamente polimórfica (29).

Apesar de existir apenas a espécie de *C. sativa*, sendo *C. indica* e *C. ruderalis* sinónimos de *C. sativa*, a quantidade de canabinóides presentes na planta também tem sido utilizada como método de identificação das diferentes “espécies” de canábis. Este foi utilizado pela primeira vez por Small e Cronquist onde a concentração de 0,3% (peso seco) de Δ^9 -THC foi proposta como marca química que diferencia assim o cânhamo da marijuana. Plantas com concentrações de Δ^9 -THC $<0,3\%$ são consideradas cânhamo (canábis tipo fibra), enquanto as que contêm Δ^9 -THC $\geq 0,3\%$ são consideradas marijuana (canábis tipo droga) (20). “*C. ruderalis*” raramente é cultivada pois não tem conteúdo significativo, ao contrário de *C. sativa* e “*C. indica*”, as principais fontes de canabinóides (26).

Cannabis sativa pode apresentar múltiplos fenótipos químicos ou quimiotipos, que expressam diferentes composições químicas de canabinóides. Podem ser plantas que contêm Δ^9 -THC como canabinóide prevalente, plantas em que CBD é predominante ou variedades de plantas que apresentam misturas de ambos (30). Desta forma é possível ajustar os níveis de CBD e de Δ^9 -THC nas formas medicinais de canábis, através da criação de fenótipos químicos específicos de forma a minimizar os efeitos psicotrópicos indesejados do Δ^9 -THC (30).

2 Canábis

2.1 Operações envolvidas na obtenção de canabinóides

Nos últimos anos a indústria da canábis tem sofrido a passagem do mercado negro para um mercado legal, onde o desenvolvimento de produtos e os métodos de extração tornaram-se um ponto importante. A enorme diversidade de produtos atualmente disponíveis, medicinais ou recreativos, permite a personalização para atender a propósitos específicos, desde a tradicional flor da canábis seca ser popular para fumar e vaporizar, até à sua existência sob a forma tópica, cartucho de vaporização ou comestível, que tem apresentando o seu conjunto de vantagens e desvantagens (31).

Desde a colheita da canábis até ao produto final, estão envolvidas diferentes operações, tais como o corte, a secagem, cura, o armazenamento e embalagem, dando origem a diferentes formas de produto final (27). De forma a dar continuidade à investigação científica sobre a seleção, identificação e caracterização de compostos bioativos é importante que a escolha do método de extração seja adequada. Dependendo do procedimento e das substâncias utilizadas, os diferentes métodos de extração originarão diferentes graus de qualidade e de composição do extrato (32).

2.1.1 Secagem

A planta *C. sativa* é composta por 80% de água, por esta razão a secagem é considerada essencial para o armazenamento seguro e o desenvolvimento de diversos produtos secos prontos a utilizar. Boas condições de secagem são importantes para obter produtos com quantidades de canabinóides constantes (27). Este passo evita o crescimento de microrganismos, como também permite a sua conservação a longo prazo, mantendo as características iniciais presentes na planta (sabor, propriedades medicinais e eficácia). A “secagem ao ar”, também conhecida como “secagem em suspensão” (Figura 2.1) é a forma mais antiga de secagem das plantas de cânhamo após a sua colheita. Consiste em colocar as plantas numa sala escura e fresca, dispostas em telas de secagem (33). Este método apresenta a desvantagem de necessitar de uma remoção manual das folhas, bem como o tempo necessário para completar o processo. As diferentes partes da planta secam a ritmos diferentes, podendo originar uma secagem desigual se a separação não for efetuada de forma correta.



Figura 2.1. Método de “secagem ao ar” da espécie *C. sativa*. Adaptado de (32).

O método de “secagem na estufa” consiste numa secagem em estufa e pode ser efetuado com ou sem circulação de ar. É um método pouco utilizado na indústria da canábida uma vez que temperaturas elevadas podem resultar na perda de diversos componentes, o que levou ao desenvolvimento de tecnologias alternativas de secagem (34). A liofilização, apesar de ser um método com elevados custos associados, é um procedimento popular devido ao facto de manter a planta de canábida a temperaturas inferiores às do ar ou da estufa, remove o conteúdo de água sob a forma de vapor com capacidade de inibir as atividades microbianas e enzimáticas, preservando os diferentes compostos e a forma ácida dos canabinóides (33). Condições de secagem incorretas podem provocar perda de terpenos e a descarboxilação de canabinóides. Desta forma, qualquer que seja o método de secagem, é importante otimizar parâmetros como a humidade, temperatura, ventilação e tempo, mas também a presença de luz, oxigénio e calor (35).

2.1.2 Extração

Em relação à extração de canabinóides, esta é uma etapa crucial para separar as moléculas bioativas da matriz da planta (36) e permitir disponibilizar os canabinóides, terpenos e outros componentes numa forma altamente concentrada (37). Com o intuito de melhorar as diversas aplicações dos compostos na indústria farmacêutica, são explorados diversos métodos: convencionais com solventes, sem solventes ou outros (32).

Os métodos que envolvem a extração sem solventes orgânicos são procedimentos tradicionais simples, mas desatualizados, que exploram o facto dos canabinóides serem semilíquidos e poderem ser extraídos através de aquecimento e pressão adequados. Como exemplos, a peneiração a seco, extração com água e extração com uma prensa rosina *rosin press* (32). O processo de extração por peneiração a seco começa por forçar os tricomas a separarem-se da planta através da sua colisão com uma tela de rede, como se trata de um procedimento árduo e moroso, não é muito popular a nível industrial. A extração com água envolve a imersão da planta em água gelada e posterior agitação com o objetivo de eliminar os tricomas. Estes são posteriormente filtrados, recolhidos e secos, no entanto, é um processo que se torna difícil de efetuar em grande escala. A extração *rosin press* utiliza a pressão e o calor de forma a romper os tricomas da planta e obter resina rica em canabinóides e terpenos. É um processo simples, considerado de alta qualidade, mas com um baixo rendimento de extração (31,32).

Métodos de extração com solventes, tal como o nome indica, requerem um solvente para completar o processo. Maceração estática e dinâmica, Soxhlet, extração assistida por ultrassons (UAE, do inglês *ultrasonic-assisted extraction*), extração assistida por microondas (MAE, do inglês *microwave-assisted extraction*), são alguns exemplos de métodos que podem utilizar diversos solventes para extrair os canabinóides (32). Uma variedade de solventes pode ser usada para extrair canabinóides, incluindo etanol, hexano, éter de petróleo, éter metil *terc*-butílico, éter dietílico, dióxido de carbono (CO₂) supercrítico e azeite (37). Solventes gasosos, como o butano e propano, também podem ser utilizados em métodos de extração, nestes casos, o processo é iniciado na fase gasosa à temperatura ambiente e são arrefecidos ou pressurizados para o estado líquido à medida que passam pelo material vegetal. A amostra extraída é recolhida e o solvente é evaporado (38).

A escolha do solvente é crítica para a eficiência dos métodos de extração, uma vez que apresentam solubilidade e afinidade molecular diferentes para canabinóides, a sua seleção deve ter em conta estes e outros fatores, como toxicidade, segurança ambiental, a utilização de co-solvente e viabilidade financeira (39).

Os métodos convencionais Soxhlet e maceração dinâmica apesar de serem precisos, são procedimentos que consomem tempo e muito solvente, já outros métodos modernos e avançados de extração, como extração com fluido supercrítico (SFE, do inglês *supercritical fluid extraction*), UAE e MAE, são técnicas alternativas viáveis e convenientes, e por esse motivo mais usadas em indústria (32). O Quadro 2.1 sumariza os métodos de extração convencionais e alternativos dos canabinóides bem como as suas vantagens e limitações.

Quadro 2.1: Descrição de métodos convencionais e alternativos de extração (33,35,40,41).

Método de extração	Descrição do Processo	Vantagens e Limitações
Métodos Convencionais		
Soxhlet	<p>Pode também ser utilizado como modelo de comparação com os novos métodos alternativos de extração. A amostra é colocada dentro de um cartucho de papel de filtro poroso, que será inserido no extrator de Soxhlet que está ligado a um condensador e ao balão que contém o solvente de extração. O balão de fundo redondo é aquecido e o solvente à medida que vai evaporando sobe pelo tubo lateral do extrator até atingir o condensador. No condensador, o vapor condensa e goteja para a câmara de Soxhlet (onde se encontra a amostra no cartucho) e vai dissolvendo os compostos bioativos. À medida que a câmara do Soxhlet enche, o solvente, agora contendo o soluto, é sifonado de volta para o balão de fundo redondo, onde o processo se repete até que a extração esteja completa (32).</p>	<p>Metodologia simples e de elevado rendimento, no entanto, ocorre a degradação de moléculas e a utilização de solventes não é ecológica (40).</p>
Maceração dinâmica	<p>Imersão de amostra em um solvente orgânico, que varia de acordo com a polaridade do composto alvo, durante um tempo e a uma temperatura específica, não muito elevada e com agitação (32,39).</p>	<p>Processo acessível e simples, mas com possível extração de substâncias indesejadas e degradação de compostos sensíveis (36).</p>
Métodos Alternativos		
UAE	<p>A utilização de ondas sonoras permite a penetração dos solventes (etanol é o que permite obter um maior rendimento de canabinóides) numa matriz das amostras e extrair os compostos de interesse através de um processo de cavitação (32).</p>	<p>Método rápido, simples, ecológico, com custos iniciais e de produção reduzidos. É considerada menos ecológica com resíduos de potencial risco (34,39,40).</p>

<p>MAE</p>	<p>Procedimento que fornece energia eletromagnética sob a forma de micro-ondas a cada uma das moléculas, esta é convertida em energia cinética que pode quebrar as paredes celulares e libertar o seu conteúdo numa fase líquida. É um método que pode ser utilizado com ou sem solvente, no caso deste estar presente, absorve as micro-ondas e dissipa a energia no sistema (32,34).</p>	<p>Método seguro, com processos de menor custo e ecologicamente correto, permite obter um produto final com elevada pureza e reduzir o consumo de solvente, energia e riscos ambientais, incluindo resíduos químicos (34).</p>
<p>SFE</p>	<p>Abordagem ecológica usada para substituir os métodos convencionais e de extração com solventes orgânicos, surgiu com o objetivo de diminuir os impactos ambientais e reduzir os resíduos tóxicos através da utilização de um fluido supercrítico, geralmente o CO₂ (36). Este solvente supercrítico, com propriedades semelhantes às de um gás ou líquido, de baixa pressão e temperatura, tornam-se adequado para extrair compostos num curto espaço de tempo (34,39).</p>	<p>Processo que permite preservar compostos termossensíveis através da utilização de baixas temperaturas, reduzir custos operacionais e tempo de extração (34). Apresenta a desvantagem do CO₂ ser um solvente de baixa polaridade (39).</p>

2.2 Biossíntese de Metabolitos

A síntese de canabinóides (Figura 2.2) envolve duas vias localizadas em locais distintos nos tricomas glandulares: a via do poliacetato (representada na cor vermelha) processada no citosol das células, em que é formado o ácido olivetólico (OLA, do inglês *olivetolic acid*); a via isoprenóide dependente de metileritritol-4-fosfato (MEP do inglês *methylerythritol 4-phosphate*) (representada na cor azul), que ocorre nos organelos plastidiais (plastos) e vai gerar geranilo difosfato (GPP, do inglês *geranyl pyrophosphate*) (41).

A partir do ácido hexanóico, derivado da via biossintética de ácidos gordos, é produzido o hexanoil-CoA por ação da enzima ativadora de acilo (AAE1, do inglês *acyl-activating enzyme*) (41). Posteriormente, utilizando três unidades de malonil-CoA, por ação da enzima olivetol sintase (OLS, do inglês *olivetol synthase*) e da enzima ácido olivetólico

ciclase (OAC, do inglês *olivetolic acid cyclase*), o intermediário sofre condensação e ciclização, respetivamente, e é formado o ácido olivetólico (OLA, do inglês *olivetolic acid*) (42). O GPP por sua vez resulta da condensação do isopentenil difosfato (IPP, do inglês *isopentenyl diphosphate*) e do dimetilalil difosfato (DMAPP, do inglês *dimethylallyl diphosphate*) através da ação da enzima geranyl-difosfato sintase (GPS, do inglês *geranylpyrophosphate synthase*) (41).

A enzima olivetolato geranyltransferase (GOT, do inglês *olivetolate geranyltransferase*) é responsável pela prenilação do ácido olivetólico, originando o precursor dos fitocanabinóides, o ácido canabigerólico (CBGA, do inglês *cannabigerolic acid*), a partir do GPP e OLA. A síntese de ácido tetra-hidrocanabinólico (THCA, do inglês *tetrahydrocannabinolic acid*), ácido canabidiolólico (CBDA, do inglês *cannabidiolic acid*) e ácido canabicroménico (CBCA, do inglês *cannabichromenic acid*) prossegue através das oxidociclases apropriadas, THCA sintase, CBDA sintase e CBCA sintase, respetivamente (43). A etapa final da biossíntese dos canabinóides ocorre na parede celular da face apical das células da cabeça do tricoma. As formas ácidas são então convertidas em Δ^9 -THC, CBD e CBC, através do processo de descarboxilação não enzimático (41).

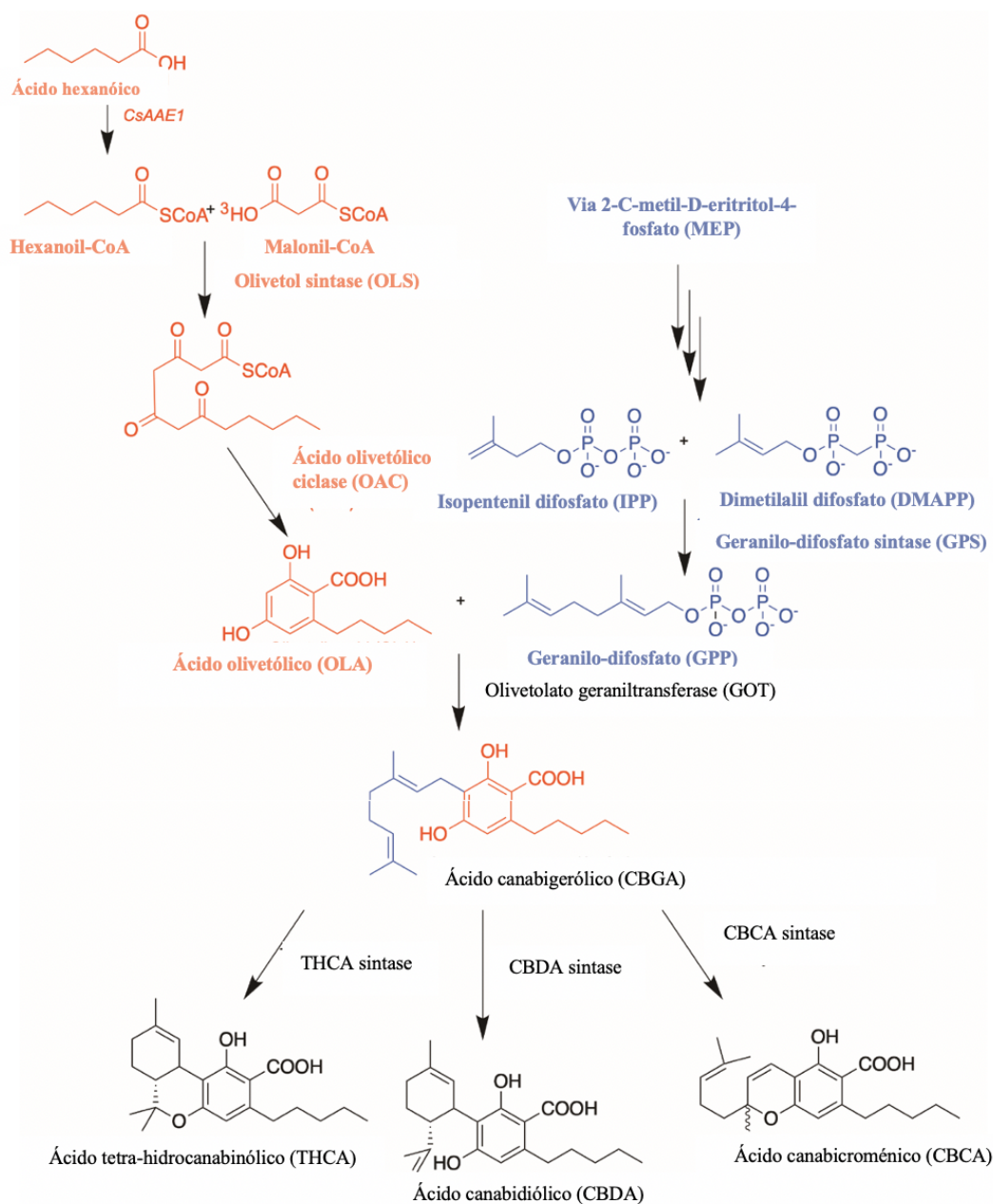


Figura 2.2: Vias biossintéticas dos canabinóides. csAAE1, enzima ativadora de acilo; OLS, olivetol sintase; OAC, ácido olivetólico ciclase; OLA, ácido olivetólico; MEP, via metileritritol-4-fosfato; GPS, geranilo-difosfato sintase; IPP, isopentenildifosfato; DMAPP dimetilalil difosfato; GPP, geranilo difosfato; CBGA, ácido canabigerólico; THCA, ácido tetrahidrocanabinólico; CBDA, ácido canabidiólico; CBCA, ácido canabicroménico; GOT, olivetolato geraniltransferase. *Adaptado de (42).*

2.3 Canabinóides

Os compostos químicos denominados por canabinóides estão organizados em três categorias: fitocanabinóides presentes nas espécies do género *Cannabis*, canabinóides sintéticos e endocanabinóides, compostos produzidos pelo corpo humano (5).

Conhecendo as múltiplas origens e os diferentes modelos estruturais dos canabinóides psicoativos, foi possível perceber que estes ligam-se a recetores CB1 que existem maioritariamente no cérebro. Muitos destes compostos também têm capacidade de ativar os recetores CB2 que se encontram principalmente no sistema nervoso periférico (SNP). Estudos relativamente recentes sugerem que os aumentos endógenos de endocanabinóides parecem ótimos para reproduzir os estímulos do principal constituinte psicoativo primário da planta canábica, o Δ^9 -THC (44).

2.3.1 Canabinóides endógenos

No início da década de 1990, a descoberta dos recetores CB1 e CB2 foi essencial para identificar substâncias endógenas com capacidade de ativar os mesmos, conduzindo à descoberta e caracterização do sistema endocanabinóide (ECS) (44). O ECS envolve uma rede complexa de sinalização, funciona como mecanismo essencial para a neuromodulação e inclui recetores, vias de sinalização, endocanabinóides, enzimas e vias sintéticas e metabólicas (45).

Os endocanabinóides, canabinóides sintetizados endogenamente, são lípidos sinalizadores que ativam os recetores canabinóides (46), incluem uma variedade de constituintes bioquímicos como enzimas e transportadores, estando presentes num conjunto diversificado de tecidos. A sua libertação é desencadeada por vários estímulos, desde a atividade física, stress, consumo de alimentos, sinais inflamatórios, danos teciduais ou obesidade (47). Os dois ligandos endógenos extensivamente mais estudados são o 2-araquidonoilglicerol (2-AG) e *N*-araquidonoiletanolamida (anandamida ou AEA) (Figura 2.3). Possuem semelhanças moleculares, mas as suas vias de síntese e de degradação diferem, justificando assim o facto dos seus papéis fisiológicos e fisiopatológicos serem distintos (45).

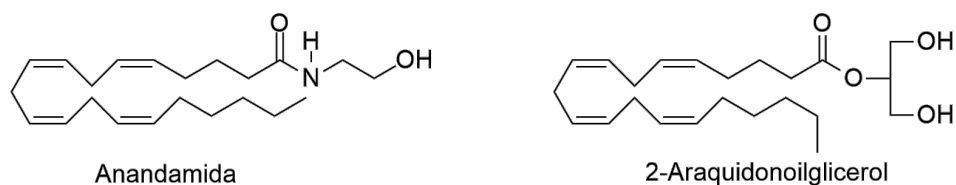


Figura 2.3: Fórmula estrutural dos endocanabinóides.

Ao contrário dos neurotransmissores clássicos, os endocanabinóides apresentam um mecanismo de sinalização retrógrada, ou seja, a modulação da informação ocorre dos terminais pós-sinápticos para os recetores canabinóides localizados nos terminais pré-sinápticos, inibindo desta forma a libertação de neurotransmissores (48). A sua síntese é dependente de clivagem da membrana fosfolipídica, são derivados do ácido araquidónico e produzidos *on demand* na membrana pós-sináptica em resposta a sinais específicos durante intensos períodos de atividade neuronal (49,50). Os ligandos endógenos caracterizam-se por exercer uma ação local, são libertados imediatamente após a sua biossíntese de forma a atuarem como fatores pró-homeostáticos (51), o que significa que não são armazenados em vesículas secretoras, mas imediatamente degradados após terem produzido um efeito biológico (48,52).

A anandamida atua como agonista parcial dos recetores CB1 e CB2 expressos nos neurónios pré-sinápticos que regulam a libertação de outro neurotransmissor (5,8). Interfere eficazmente com a ligação de diversos compostos, abrangendo o bloqueio dos canais de cálcio dependentes de voltagem, a ativação das correntes de potássio, a ligação à proteína G e a indução de diversas vias de sinalização celular, bem como múltiplos outros efeitos. A síntese da anandamida está associada à existência de vias biossintéticas alternativas, sugerindo a probabilidade de um mecanismo evolutivamente conservado para a preservação do sistema endocanabinóide (5), no entanto, é a enzima catalisadora fosfolipase D específica da *N*-araquidonoil-fosfatidiletanolamina (NAPE-PLD, do inglês *N*-arachidonylphosphatidylethanolamine phospholipase D) e a fosfolipase C (PLC, do inglês *phospholipase C*) as principais responsáveis pela síntese da AEA a partir da *N*-acil fosfatidiletanolamina (NAPE, do inglês *N*-acyl phosphatidylethanolamine) (8,51).

A principal enzima de desativação da anandamida é a amida hidrolase de ácidos gordos (FAAH, do inglês *fatty acid amide hydrolase*), cujo produto de degradação é o ácido araquidónico e etanolamina. No entanto, outras enzimas são também responsáveis pela

degradação da mesma, como a amidase ácida de *N*-acil etanolamina (NAAA, do inglês *N-acylethanolamine acid amidase*) (53), ou através de oxidação, como a ciclooxigenase-2 (COX-2) e várias lipoxigenases, convertendo-a em derivados oxigenados que apresentam atividade biológica própria nas vias inflamatórias dos eicosanóides envolvidos na regulação da inflamação (5,54).

Este ligando endógeno existe em elevadas concentrações no tecido uterino. A atividade enzimática responsável pela decomposição da anandamida quando se encontra diminuída está associada a abortos espontâneos durante a fase inicial da gravidez, revelando desta forma o seu possível papel na reprodução (45).

O 2-AG, uma variante molecular do monoacilglicerol (45), atua como um agonista nos recetores CB1 e CB2 (5,8), apresentando uma maior afinidade para estes recetores quando comparado com a anandamida (50). No entanto, estudos recentes demonstram que possui uma potência menor na ligação aos recetores canabinóides em membranas sinápticas derivadas de tecido cerebral de ratos (45). O 2-AG é sintetizado essencialmente através da ação das enzimas diacilglicerol lipase α e β (DAGL- α , do inglês *diacylglycerol lipase α* e DAGL- β , do inglês *diacylglycerol lipase β*) a partir do diacilglicerol (DAG, do inglês *diacylglycerol*) (51). A sua degradação ou inativação ocorre por uma variedade de enzimas, a monoacilglicerol lipase (MAGL, do inglês, *monoacylglycerol lipase*) é predominantemente responsável pela sua hidrólise (8), embora a hidrolase de domínio α/β 6 (ABHD6, do inglês *α/β -Hydrolase Domain-Containing 6*) também seja responsável pela degradação do 2-AG nos seus componentes, o ácido araquidónico e glicerol (55), ou modificá-lo por acilação ou fosforilação (5).

Em resumo, a anandamida e o 2-AG interagem de forma complexa para induzir efeitos de estímulo discriminativo canabimimético. A anandamida apenas substitui o Δ^9 -THC através de administração exógena e na maioria das vezes, com inibição concomitante do seu metabolismo pela FAAH (administrados isoladamente, os inibidores da FAAH não induzem efeitos semelhantes), em contraste, um aumento endógeno da concentração de 2-AG através da administração de um inibidor de MAGL parece ser mais eficaz ao promover efeitos semelhantes aos produzidos pelo Δ^9 -THC (44). Apesar de ainda não ser totalmente compreendido, os endocanabinóides desempenham um papel biológico importante em muitos processos fisiológicos, desde a inibição da dor, em processos de

aprendizagem, antinocicepção, esquizofrenia, secreção hormonal do eixo hipotálamo-hipófise, reações inflamatórias, proliferação e apoptose celular (48).

2.3.2 Fitocanabinóides

A espécie *C. sativa* é uma fonte privilegiada de constituintes naturais bioativos, mais de 120 compostos terpenofenólicos são conhecidos como fitocanabinóides (45). São canabinóides neutros que possuem uma estrutura básica lipídica com uma parte alquilresorcinol e uma parte monoterpénica nas suas moléculas (30). Entre eles, o Δ^9 -THC (Figura 2.4), descoberto em 1971, um dos principais compostos ativos responsáveis pela identificação do ECS, incluindo os recetores CB1 e CB2 (45).

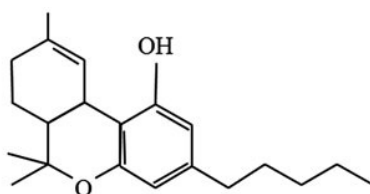


Figura 2.4: Fórmula estrutural do fitocanabinóide (tetra-hidrocanabinol/ Δ^9 -THC).

Embora o Δ^9 -THC e o CBD representem os fitocanabinóides mais conhecidos, outros constituintes importantes incluem o canabigerol (CBG), canabicromeno (CBC) e a tetra-hidrocanabivarina (THCV). São compostos que existem predominantemente na forma de ácidos (como THCA e CBDA), que após a colheita da planta, o processo de secagem e a aplicação de calor iniciam a descarboxilação não enzimática dos respetivos compostos para as correspondentes formas neutras (5).

A complexidade na composição dos fitocanabinóides envolve muitas variações na composição das cadeias laterais e existem diversos fatores capazes de induzir alterações não enzimáticas durante a biossíntese destes compostos, como o calor, a luz e o oxigénio atmosférico, acabando por afetar constituintes como o CBG, CBD, Δ^9 -THC e CBC (45).

O Δ^9 -THC sofre grande parte do seu metabolismo no fígado (30), funciona como agonista parcial dos recetores canabinóides 1 e 2 (CB1 e CB2) (5,45) e é responsável pelos efeitos psicotrópicos da canábida. Apresenta propriedades psiquiátricas (efeitos pró-psicóticos e eufóricos) como resultado provável do agonismo no recetor CB1, mas também propriedades analgésicas e anti-inflamatórias (56).

O CBD, pelo contrário, pode atuar como um modulador alostérico negativo dos recetores CB1, alterando a conformação do recetor e a atividade de ligação ao ligando. Ao nível do recetor CB2, alguns estudos revelam que atua como agonista inverso, mas outros identificam o CBD como agonista parcial destes recetores (57). Além disso, apresenta uma atividade reduzida nos recetores canabinóides em comparação com o Δ^9 -THC (56).

Quando co-administrado com Δ^9 -THC, o CBD pode ser capaz de reduzir alguns dos efeitos sintomáticos induzidos pelo Δ^9 -THC, como ansiedade e paranoia, sugerindo que tem capacidade de neutralizar o agonismo induzido através do efeito alostérico negativo e, portanto, ter potencial terapêutico como tratamento para psicopatologia induzida pela canábida, possuindo propriedades ansiolíticas e antipsicóticas (58) A modulação alostérica negativa do recetor canabinóide CB1 pode explicar o facto do consumo frequente de canábida com níveis elevados de CBD poder ser menos prejudicial do que o consumo semelhante de canábida com baixos teores do fitocannabinóide (46).

A compreensão do mecanismo de ação da interação dos fitocannabinóides com os vários alvos moleculares continua insuficientemente esclarecido. Desta forma, o CBD e o seu análogo propílico, a canabidivarina (CBDV), têm sido alvo de uma investigação científica crescente devido ao elevado espectro de atributos terapêuticos dependentes dos recetores canabinóides, mas também propriedades que não estão relacionadas a um mecanismo específico (funções anti-inflamatórias, anti-náuseas, anti-tumorais, anticonvulsivas, ansiolíticas e neuroprotetoras) (45,56).

2.3.3 Canabinóides sintéticos

Após a descoberta dos fitocanabinóides primários, a estrutura do Δ^9 -THC foi modificada de forma a compreender os mecanismos associados às suas ações farmacológicas (5). A elucidação dos mesmos permitiu a descoberta de recetores e dos endocanabinóides, forneceram informações sobre doenças e possibilitaram o desenvolvimento de novos medicamentos através de diversos compostos estruturalmente diversos que serviram de ferramentas muito importantes, desde canabinóides bicíclicos a aminoalquilindóis (5,59).

Os primeiros canabinóides sintéticos que surgiram, como o JWH018 (Figura 2.5), começaram por ser vendidos na internet e em lojas de conveniência sob várias designações, “Spice” ou “K-2” como estratégia de marketing (5) e substitutos legais da canábis (59). Os canabinóides sintéticos presentes em produtos como o “Spice” incluem vários compostos, como naftoilindóis, benzoilindonas e fenilacetilindóis, podendo a sua composição variar substancialmente até dentro do mesmo lote ou embalagem (45).

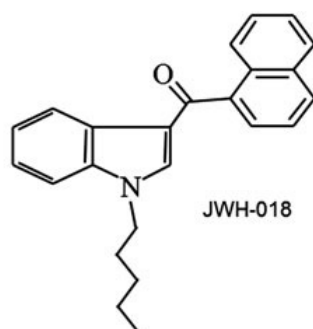


Figura 2.5: Fórmula estrutural do canabinóide sintético (agonista JWH-018).

Os canabinóides sintéticos são funcionalmente semelhantes ao Δ^9 -THC, ligam-se aos mesmos recetores no cérebro (59) e, segundo alguns estudos, possuem a capacidade de produzir uma resposta semelhante à do Δ^9 -THC (44), ou muito mais profunda em seres humanos. Os canabinóides sintéticos têm sido associados a uma toxicidade fisiológica e a diversas complicações psicológicas: euforia, letargia, percepção distorcida do tempo, desempenho motor alterado, alucinações, paranoia, confusão, medo, ansiedade, boca

seca, olhos vermelhos, taquicardia, náuseas e vômitos, são efeitos relatados após consumo de canabinóides sintéticos (59,60), representando frequentemente uma ameaça maior à saúde pública quando comparados com a canábis/ Δ^9 -THC (60), o que tem levado a que sejam substâncias sistematicamente proibidas.

Os mecanismos farmacológicos associados ao aumento de complicações médicas como resultado do consumo de compostos que são utilizados para fins recreativos não se encontra totalmente conhecido, no entanto, parte dos efeitos parecem ser resultado da grande potência dos canabinóides sintéticos e doses involuntariamente elevadas a que os utilizadores podem estar expostos. Estudos laboratoriais permitiram identificar que produtos vendidos apresentam uma potência muito superior quando comparados com a de Δ^9 -THC. Enquanto o Δ^9 -THC é apenas um agonista parcial, os canabinóides sintéticos, mesmos em baixas doses, atuam como agonistas nos recetores CB1 (59) e estão envolvidos em outros potenciais locais de ação de recetores não canabinóides, resultando na sua grande eficácia (5).


Apesar disso, nos últimos anos outros compostos baseados em diferentes modelos estruturais têm tomado o seu lugar ao demonstrarem substituir os efeitos dos fitocannabinóides com potências que se correlacionam fortemente com as suas afinidades para o recetor CB1 (44). A adulteração de produtos de canábis com canabinóides sintéticos na Europa tem aumentado de uma forma preocupante, têm sido registados casos de morte súbita, comportamentos agressivos, agitação, psicose e depressão respiratória (59).

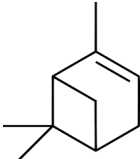
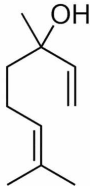
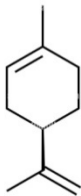
2.4 Terpenos e Flavonóides

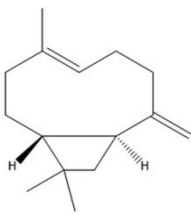
Os terpenos e os terpenóides, presentes nas resinas vegetais e nos óleos essenciais, são componentes responsáveis por muitos efeitos farmacológicos de várias plantas medicinais, incluindo a canábis, conferindo um aroma e sabor distintos à planta (61). Os terpenos são hidrocarbonetos, enquanto os terpenóides contêm grupos funcionais adicionais com oxigénio (62). São divididos com base no número de unidades de construção repetidas, as unidades de isopreno, compostas por cinco átomos de carbono (63).

Os terpenos, tal como os canabinóides, têm propriedades lipofílicas (61). Interagem com vários alvos, incluindo recetores de neurotransmissores, canais iónicos nos músculos e neurónios, recetores de proteína G, enzimas, membranas celulares e sistemas de segundos mensageiros. Os terpenos funcionam de forma independente e sinérgica com os canabinóides para produzir vários efeitos terapêuticos, como a capacidade de aumentar a permeabilidade da barreira hemato-encefálica e influenciar a ligação do Δ^9 -THC aos recetores CB1, contribuindo para os efeitos neuroprotetores e efeitos analgésicos dos canabinóides (64). O Quadro 2.2 representa, de forma resumida, algumas propriedades farmacológicas e estudos pré-clínicos dos principais terpenos presentes na espécie do género *Cannabis*. Os terpenos e terpenóides maioritários e mais comuns presentes na canábis são: β -cariofileno, mirceno, α -pineno, humuleno, linalol, limoneno, terpinoleno, terpineol, ocimeno, valenceno e o geraniol. Exemplos de terpenóides que também podem estar presentes, mas em concentrações mais baixas, são o α -bisabolol, fitol, borneol, cineole (eucaliptol), acetato de geraniol, fenchol, cânfora, mentol, isopulegona e os terpenos terpineno, canfeno, sabineno, entre outros (62,64).

Quadro 2.2: Resumo das propriedades farmacológicas e estudos pré-clínicos dos principais terpenos e terpenóides presentes na espécie do género *Cannabis* com a respetiva estrutura química (29,62).

Terpeno	Mecanismo de Ação e Alvos Moleculares	Modelos pré-clínicos e efeitos <i>in vivo</i>
Monoterpenos/monoterpenóides		
<p>β-Mirceno C₁₀H₁₆</p> 	<p>Possível ativação do canal TRPV1; melhora o transporte de Δ^9-THC através da barreira hemato-encefálica.</p>	<p>Propriedades analgésicas, anti-inflamatórias e ansiolíticas; Envolvimento dos sistemas opióide e noradrenérgico por ação da nociceção sensível à naloxona e ioimbina.</p>

<p>α-Pineno C₁₀H₁₆</p> 	<p>Inibidor da acetil-colinesterase; Inibição da produção de IL-6, TNF-α e NO; Supressão das atividades de MAPK e NF-κB (responsável pela transcrição de citocinas pró-inflamatórias) nos macrófagos peritoneais; Sem ativação direta dos recetores CB1 ou CB2 com base na medição da atividade dos canais de potássio.</p>	<p>Terpeno natural mais prevalente; atividade anti-inflamatória, antioxidante, anti-osteoartrítica e contraria a perda de memória a curto prazo causada pelo Δ^9-THC; Envolvimento do sistema opióide, colinérgico e possivelmente serotoninérgico; o seu efeito analgésico é sensível à naloxona e atropina.</p>
<p>Linalol C₁₀H₁₆O</p> 	<p>Aumento da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase; nos neurónios elimina ROS e protege-os do stress oxidativo induzido pelo glutamato; Regulação dos canais de K⁺, Na⁺ dependentes de voltagem e Ca²⁺; Melhora a permeabilidade de compostos hidrofílicos.</p>	<p>Propriedades anti-isquémicas, antioxidantes e anti-inflamatórias; Efeito anti-hiperalgésico em vários modelos de dor aguda e crónica; Redução da tolerância e dependência da morfina; Possíveis interações com os sistemas de recetores opióides, dopaminérgicos, colinérgicos, glutamatérgicos, canabinóides, GABAérgicos e adenosina.</p>
<p>Limoneno C₁₀H₁₆</p> 	<p>Redução da síntese de NO induzida por IL-1β; Diminuição da produção de prostaglandinas E2, e citocinas (TNF-α e IL-1β); Redução da produção de ROS; Modulação da atividade do canal TRPA1; Ativação da via NO/cGMP; Redução da migração de leucócitos e neutrófilos, da permeabilidade vascular e da atividade da mieloperoxidase; Intensificação da permeação de compostos lipofílicos através da pele.</p>	<p>Efeitos anti-inflamatórios (alívio de inflamações intestinais) e antioxidantes significativos; Antinociceção aguda e crónica em vários tipos de dor; Propriedades anti-hiperalgésicas.</p>

Sesquiterpenos		
<p>β-Cariofileno C₁₅H₂₄</p> 	<p>Possível agonista do recetor CB2; Ativação de PPARs; Redução da expressão e a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1β, a IL-6, a IL-8 e o TNF-α).</p>	<p>Efeito antinociceptivo, anti-inflamatório e neuroprotector em vários modelos de dor; no modelo de lesão por isquemia-reperfusão cerebral, protege os neurónios, inibe a ativação microglial e diminui a libertação de citocinas pró-inflamatórias.</p>

TRPV1, do inglês *transient receptor potential cation channel subfamily V (vanilloid) member 1*; IL-6, do inglês *interleukin-6*; IL-1β, do inglês *interleukin-1β*; IL-8, do inglês *interleukin -8*; TNF-α, do inglês *tumor necrosis factor-α*; NO, do inglês *nitrogen oxide*; MAPK, do inglês *mitogen-activated protein kinase*; NF-κB, do inglês *nuclear factor κ-light-chain-enhancer of activated B cells*; Δ⁹-THC, Δ⁹-tetrahydrocannabinol; ROS, do inglês *reactive oxygen species*; TRPA1, *transient receptor potential cation channel subfamily A (Ankyrin) member 1*; cGMP, do inglês *cyclic guanosine monophosphate*; PPARs, do inglês *peroxisome proliferator-activated receptor*.

O conteúdo e a distribuição de cada terpeno dependem das condições em que a planta é encontrada e da sua maturidade, sendo que o conteúdo de monoterpenos e sesquiterpenos é identificado principalmente em flores, raízes ou folhas da planta de *Cannabis* (63).

Os flavonóides são uma classe de compostos fenólicos. Entre os flavonóides presentes na canábis, destacam-se as canflavinas, nomeadamente a canflavina A (CFL-A), B (CFL-B) e C (CFL-C) (Figura 2.6). Estes compostos são prenilados e apresentam propriedades terapêuticas prometedoras, nomeadamente como agentes anti-neuroinflamatórios no combate ao stress oxidativo e a processos neurodegenerativos (62).

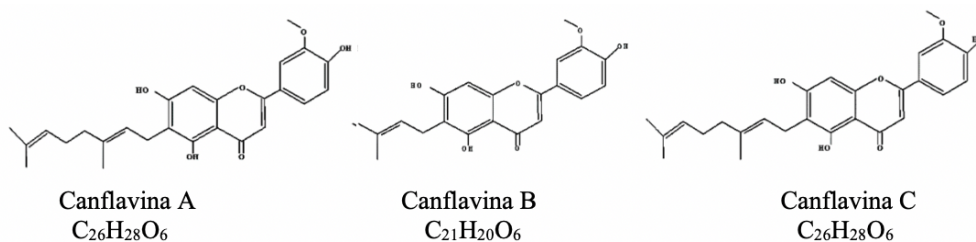


Figura 2.6: Estrutura química de flavonóides prenilados presentes na espécie do género *Cannabis*.

2.4.1 Efeito “Entourage”

Efeito “entourage” é um termo definido pelo investigador Raphael Mechoulam na década de 1990 para descrever a modificação das propriedades farmacológicas de moléculas individuais através de interações com metabolitos coexistentes, mesmo que estes metabolitos não tenham atividade farmacológica inerente. Um estudo conduzido por este investigador revelou um par de monoacilgliceróis que influenciaram a atividade do canabinóide endógeno 2-AG por meio da inibição do seu metabolismo. Este conceito surgiu porque apesar de serem farmacologicamente inertes por si só, estes compostos exibiram um impacto significativo na atividade do composto alvo (62). Este fenómeno engloba dois tipos de interações: “intra-entourage”, resultante de interações entre fitocanabinóides ou terpenos, e ‘inter-entourage’, resultante de interações entre fitocanabinóides e terpenos (61,65)

Este efeito no contexto da neuro-inflamação e doenças neurodegenerativas pode ser um fenómeno interessante que sublinha a interação entre as várias fitomoléculas que são encontradas em *C. sativa*. A ação combinada dos canabinóides, juntamente com a vasta gama de terpenos e flavonóides pode contribuir para o desenvolvimento de uma resposta terapêutica mais abrangente e robusta, uma vez que o sinergismo entre vários compostos presentes na planta ou num extrato pode ser clinicamente mais eficaz do que uma molécula fitocanabinóide única ou predominante. Contudo, não será de mais realçar que será sempre importante haver uma padronização prévia dos extratos (62).

3 Aspetos Farmacológicos

3.1 Farmacodinâmica dos Canabinóides

3.1.1 Sistema Endocanabinóide

Cannabis sativa tem sido utilizada para diversos fins, recreativos e terapêuticos, há alguns séculos, mas foi a identificação da estrutura molecular do Δ^9 -THC que impulsionou a descoberta do ECS (51).

O ECS, envolve uma rede complexa de sinalização, funciona como um mecanismo essencial para a neuromodulação e inclui os recetores canabinóides primários (CB1 e CB2), as suas vias de sinalização, os endocanabinóides (canabinóides endógenos), enzimas de síntese e degradação, mas também as vias sintéticas e metabólicas dos endocanabinóides (44,45). A descoberta de ligantes endógenos já descritos, como a anandamida ou 2-AG, permitiu o conhecimento de novos compostos e aprofundar a compreensão do que constitui o sistema endocanabinóide (51).

Este sistema neuro- e imunomodulador intercelular de sinalização lipídica, ativo na vida pré- e pós-natal, desempenha um papel importante na fisiologia normal do corpo, nas funções afetivas, cognitivas e em transtornos psicóticos (12). É responsável pela homeostasia energética, regula a ingestão de alimentos, o metabolismo e gasto de energia, estando desta forma diretamente relacionado com o apetite e com a manutenção de um peso corporal estável. Diversos estudos incluem a sua utilização para tratamento da dor crónica ou perturbações de humor e contribuição para processos cognitivos ligados à memória, podendo constituir uma perspetiva futura para o tratamento de diferentes doenças devido ao envolvimento deste sistema endógeno em condições fisiológicas e perturbações patológicas distintas (51). A atividade tónica do ECS é considerada mínima quando as condições fisiológicas são normais. Qualquer alteração no mesmo, envolvendo as concentrações de endocanabinóides, atividade e expressão dos recetores ou enzimas metabólicas está associada a estados patológicos. Desta forma, apesar dos seus contributos, a desregulação do ECS favorece a presença de algumas disfunções, desde a dor, inflamação, processos neurodegenerativos ou distúrbios psiquiátricos (48).

Os níveis dos constituintes que formam o ECS podem sofrer alterações durante o envelhecimento devido às alterações fisiológicas e progressivas que acabam por induzir o declínio da função biológica (8). Os resultados de alguns estudos demonstram que a distribuição dos recetores canabinóides nos cérebros humanos fetal, neonatal e adulto é distinta. O cérebro fetal é o que apresenta densidade mais elevada de recetores nos gânglios basais, que acaba por estabilizar na adolescência e diminuir em idades adultas (66).

3.1.2 Distribuição dos Recetores Canabinóides

CB1 e CB2 são os recetores que melhor se encontram caracterizados no sistema endocanabinóide, ambos são recetores acoplados a proteína G (GPCRs), principalmente proteína G inibitórias/acoplada a proteína G o (Gi/o) (46). Distinguem-se principalmente pela diferente distribuição nos tecidos e pela sequência de aminoácidos na cadeia polipeptídica (51). Podem ligar-se a muitos ligandos que possuem a capacidade de estabilizar conformações ativas dos recetores canabinóides e induzir diferentes vias intracelulares (8).

O recetor CB1 é codificado pelo gene *CNR1* e foi possível desenhar moléculas ligantes que se adaptassem a estes recetores após a sua clonagem (51). Associados à principal função de inibir a libertação de neurotransmissores, foram identificados no sistema nervoso central (SNC) (48), em regiões responsáveis por processos mentais e fisiológicos, como o hipocampo, estrutura límbica relacionada com a consolidação da memória e emoções, que orchestra a neuromodulação endocanabinóide (3); o córtex cerebral, responsável pela cognição; o cerebelo, envolvido na coordenação motora; os gânglios basais, que controlam o movimento; o hipotálamo, que regula o apetite; e a amígdala, relacionada com as emoções. Para além dos neurónios, o CB1 é expresso nos astrócitos, oligodendrócitos e microglia, embora em níveis menores (51). Diferentes estudos sugerem que os recetores CB1 são altamente expressos nos terminais pré-sinápticos, mas os locais pós-sinápticos também não foram excluídos devido à auto-inibição que os endocanabinóides exercem em neurónios neocorticais (67).

Para além do SNC, os recetores CB1 também são expressos em órgãos periféricos, como o coração, pulmões, trato gastrointestinal, rins, bexiga, útero, placenta, testículos, músculo esquelético, osso, articulações, células do sistema imunológico, pele, olhos, (48) mas também no tecido adiposo, o que demonstra o papel que exercem ao nível da regulação da homeostasia energética e consequentemente a contribuição para regulação do comportamento alimentar e acumulação de substratos energéticos (68).

Normalmente a expressão destes recetores no fígado é mais baixa, mas em certas patologias é registado um aumento da expressão de recetores CB1 em vários tipos de células hepáticas, contribuindo para a resistência à insulina, fibrose e lipogénese (51). Da mesma forma, o recetor CB1 é regulado positivamente no sistema cardiovascular sob certas condições patológicas, o que resulta na progressão da doença e disfunção cardíaca (54). O facto de não existirem casos de morte relatados por *overdose* devido ao consumo de canábis também pode estar relacionado com a inexistência de recetores canabinóides, principalmente CB1, no tronco cerebral, região responsável pelo controlo da respiração e batimentos cardíacos (51).

O recetor CB2 é codificado pelo gene *CNR2*. Localiza-se principalmente no sistema nervoso periférico e células do sistema imunitário: amígdalas, baço, em várias linhagens de células do sistema imunológico incluindo macrófagos, linfócitos, células assassinas naturais (NK cells, do inglês *natural killer cells*); neurónios e alguns tecidos periféricos (47). A sua principal função consiste em regular a libertação de citocinas e a dispersão de células do sistema imunológico (48). Devido à sua ampla distribuição na periferia das células imunes, são alvos para modular processos inflamatórios, como o processamento da dor. Desta forma, foi proposto que a ativação dos recetores CB2 periféricos contribuiria para os efeitos analgésicos e/ou respostas antinociceptivas dos canabinóides (50,51).

Os canabinóides são responsáveis por mediar a função biológica do ECS (48). Para além de atuarem nos recetores CB1 e CB2 clássicos acoplados à proteína G, diversos estudos farmacológicos sugerem que estas moléculas também podem atuar em recetores não canabinóides. Entre eles, recetores de serotonina 1A da família das 5-hidroxitriptamina (5-HT1A) (3), recetores ativados por proliferador de peroxissoma (PPAR, do inglês *peroxisome proliferator-activated receptor*), recetores de potencial transitório (TRP, do

inglês *transient recetor potential*) cuja principal função é atuar como recetores ionotrópicos, das subfamílias: vanilóide (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4); anquirina (TRPA1) e melastatina (TRPM8). Também podem intervir ao nível de recetores metabotrópicos, como subconjuntos órfãos de recetores acoplados à proteína G (GPR55, GPR3, GPR6, GPR12 e GPR19) (51,69), conhecidos desta forma porque envolvem mudanças no metabolismo da célula e diferenças na ativação de sistemas específicos de segundos mensageiros (48).

O TRPV1 é um recetor localizado nos terminais GABAérgicos e glutamatérgicos, hipocampo, núcleos basais e cerebelo que permite a passagem de Na⁺, K⁺ e Ca²⁺ através das membranas celulares (30). Foi identificado como sendo responsável por mediar a sinalização a jusante do ECS, participando na transdução de estímulos químicos e físicos (47). É um alvo de alta afinidade para endocanabinóides, como AEA, que tem um efeito oposto ao do CB1 uma vez que a ativação do TRPV1 despolariza os neurónios e promove um aumento da atividade neural (47).

Os PPAR são recetores nucleares que regulam a expressão de genes envolvidos em vários processos. Ambos são recetores acoplados a proteína G, principalmente inibitória. O recetor 5-HT1 de serotonina acoplado a uma proteína Gi/o, localizado em membranas pré- e pós- sinápticas no cérebro, é associado aos efeitos neuroprotetores dos canabinóides (3,47).

Fitocanabinóides, canabinóides sintéticos e endocanabinóides também podem ligar-se a GPR55, recetores localizados no sistema nociceptivo central e periférico, nos núcleos basais (relacionando-se com as memórias processuais) ou hipocampo (70), o que demonstrou um papel importante no sistema nervoso, sendo considerado um alvo terapêutico para diversas patologias como a doença de Parkinson (70) e doença de Alzheimer (71).

3.1.3 Mecanismo de ação dos Canabinóides

Os recetores canabinóides pertencem à grande família de GPCRs, proteínas de membrana que apresentam um domínio extracelular amino-terminal, três anéis extracelulares e três intracelulares, sete hélices transmembranares hidrófobas, e um domínio intracelular de ácido carboxílico terminal (51). Normalmente a ativação das proteínas G leva ao aumento

da síntese adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPc), resultando na ativação da proteína cinase dependente de AMPc (PKA, do inglês *protein kinase A*), fosforila uma proteína de canal e resulta na alteração da permeabilidade iónica (48). Por outro lado, a estimulação do CB1 permite a ativação da via de sinalização da proteína cinase ativada por mitogénio (MAPK, do inglês *mitogen-activated protein kinase*), que está envolvida na regulação da proliferação celular, controlo do ciclo e morte celular (51) (Figura 3.1).

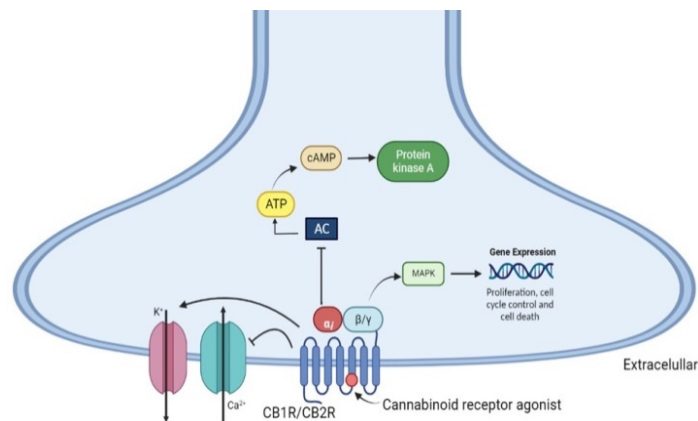


Figura 3.1: Mecanismo de sinalização intracelular através da ativação de receptores CB1 e CB2. AC, adenilato ciclase; AMPc, adenosina 3',5'-monofosfato cíclico; ATP, adenosina trifosfato; MAPK, do inglês, *mitogen-activated protein kinase* (Proteína cinase ativada por mitogénio). Adaptado de (51).

Tal como referido anteriormente, a sinalização do ECS é singular, os endocanabinóides AEA e 2-AG são sintetizados nos neurónios pós-sinápticos e libertados em direção ao terminal pré-sináptico de forma a interagir com o recetor CB1, o que leva a uma diminuição na libertação de neurotransmissores pelo neurónio (Figura 3.2) (12).

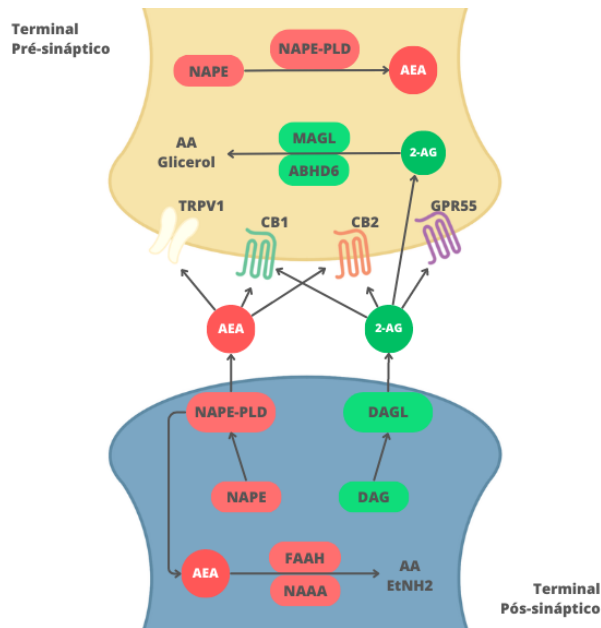


Figura 3.2: Esquema simplificado representativo da transmissão da sinalização sináptica retrógrada mediada por endocanabinóides. NAPE, do inglês *N-acyl phosphatidylethanolamine* (*N*-acil fosfatidiletanolamina); NAPE-PLD, do inglês *N-acyl phosphatidylethanolamine phospholipase D* (fosfolipase D específica da *N*-araquidonoil-fosfatidiletanolamina); AEA, anandamida; AA, ácido araquidónico; MAGL, do inglês *monoacylglycerol lipase* (lipase de monoacilglicerol); 2BHD6, do inglês *α/β -Hydrolase Domain-Containing 6*; 2-AG, 2-araquidonoilglicerol; TRPV1, do inglês *transient receptor potential cation channel subfamily V member 1* (receptores de potencial transitório vanilóide 1); CB1, recetor canabinóide 1; CB2, recetor canabinóide 2; GPR55, do inglês, *G protein-coupled receptor 55* (Recetor 55 acoplado à proteína G); DAG, do inglês, *diacylglycerol* (diacilglicerol); FAAH, do inglês *fatty acid amide hydrolase* (amida-hidrolase de ácidos gordos); NAAA, do inglês *N-acylethanolamine acid amidase* (amidase ácida de *N*-acil etanolamina); EtNH₂, do inglês *ethanolamine* (etanolamina). Adaptado de (72).

Na maioria dos casos, a sinalização retrógrada mediada por endocanabinóides é desencadeada pela produção de 2-AG *on demand* nas terminações pós-sinápticas, em resposta a enzimas sensíveis ao cálcio (normalmente as lipases) que são estimuladas por um sinal, como o aumento da concentração de Ca²⁺ causada pela despolarização celular do neurónio e/ou estimulação de receptores acoplados a proteína Gq/11 que mobilizam as reservas de cálcio intracelular (46,54,73). Após sua libertação no espaço intracelular, devido à natureza hidrofóbica sem carga, os endocanabinóides são incapazes de se difundir livremente como outros neurotransmissores (54), o mecanismo mais provável para o transporte transmembranar de endocanabinóides é a difusão facilitada mediada por transportador (46).

O 2-AG ao ser libertado, atravessa o espaço extracelular e chega ao terminal pré-sináptico, onde atua como agonista para os recetores CB1. Com a ativação de recetores canabinóides é suprimida a libertação de neurotransmissores excitatórios (por exemplo, o glutamato) e inibitórios (por exemplo, ácido γ -aminobutírico, GABA), de duas formas distintas: primeiro, é promovida a inibição da adenilato ciclase (AC) através do acoplamento com a proteína Gi/o em várias células, diminuindo os níveis de AMPc e atividade da PKA, que estão associadas à libertação de neurotransmissores; segundo, inibindo os canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem, que reduzem o influxo do cálcio pré-sináptico (52,54).

A AEA pode ser sintetizada em ambas as terminações sinápticas, atuando como agonista parcial nos recetores CB1 e CB2, mas também dos recetores TRPV1, está envolvida na supressão da transmissão sináptica por meio de múltiplos mecanismos (46,54).

Logo após a captação celular do espaço sináptico, as moléculas endógenas são inativadas por enzimas específicas em ambiente intracelular (50). A enzima MAGL, responsável pela degradação de 2-AG, está localizada em terminais sinápticos, neste caso, em neurónios pré-sinápticos, o que permite a inativação imediata do sinal endocanabinóide (52,54).

3.2 Farmacocinética dos Canabinóides

3.2.1 Absorção

A farmacocinética dos canabinóides e os efeitos observados dependem da formulação e da via de administração, que devem ser adaptadas às necessidades individuais do doente (74). *Cannabis sativa* pode ser consumida através do tabaco, mas também por via oral, adicionando-a por exemplo a alimentos ou medicamentos que contenham Δ^9 -THC sintético (75). Após a administração oral, o Δ^9 -THC é transportado para o fígado, onde a maioria é eliminada ou metabolizada. Cerca de 65% da canábida é excretada nas fezes e aproximadamente 20% excretada na urina, o restante Δ^9 -THC e metabolitos chegam ao coração e entram em circulação, no entanto, a absorção é lenta e inconstante. Embora a biodisponibilidade do Δ^9 -THC ingerido situe-se entre os 4% e 12%, como é um composto solúvel em lípidos, rapidamente é absorvido pelo tecido adiposo, baço e órgãos como o

coração ou fígado, onde se acumula nos depósitos de gordura, é libertado lentamente de volta para a corrente sanguínea e pode demorar várias semanas a desaparecer completamente do tecido adiposo (30).

Os canabinóides administrados por via inalatória apresentam uma farmacocinética semelhante aos administrados por via endovenosa (76). O Δ^9 -THC e os seus metabolitos entram rapidamente na corrente sanguínea através do pulmão, atingindo concentrações plasmáticas máximas, uma vez que é reduzido o extenso efeito de primeira passagem pelo metabolismo hepático observado após a administração oral (74). Com uma biodisponibilidade entre os 10% e 35%, a inalação produz um efeito psicoativo mais forte, com concentrações de Δ^9 -THC mais elevadas no cérebro do que no sangue (76,77). As variações dos valores de biodisponibilidade são explicadas pelas características da inalação, como o número de inalações, o tempo de retenção da respiração, duração do intervalo de inalações, volume de inalação e tipo de dispositivo inalatório utilizado (78). Em relação a formulações para administração bucal, estas sofrem uma rápida absorção através da mucosa, no entanto, parte da dose pode ser deglutida ou absorvida por via oral e por essa razão produz concentrações plasmáticas reduzidas em relação ao Δ^9 -THC inalado (74).

O CBD, é um composto que pode aumentar ou inibir a ativação dos seus alvos no local de ação (77). Tem uma absorção semelhante ao Δ^9 -THC, apresenta igualmente uma biodisponibilidade oral baixa comparativamente à via inalatória e com base neste perfil, as formulações orais podem ser úteis para doentes que necessitem de alívio sintomático durante um período mais longo (74,76).

A administração transdérmica de canabinóides evita o metabolismo de primeira passagem, mas a natureza hidrofóbica é um fator limitante para a difusão através da camada aquosa da pele, principalmente do Δ^9 -THC, consistente com o facto de o CBD ser relativamente menos lipofílico (79). Embora atualmente a administração transdérmica não seja atualmente utilizada clinicamente, tem uma potencial utilidade futura no contexto de náuseas, vómitos e anorexia (74).

3.2.2 Distribuição

Os canabinóides distribuem-se rapidamente em órgãos bem vascularizados, como por exemplo, pulmão, coração, cérebro ou fígado, no entanto, a distribuição pode ser afetada pela composição corporal ou por condições patológicas que possam alterar a permeabilidade sanguínea (74).

A utilização crónica de canabinóides apresenta uma maior predisposição para a sua acumulação no tecido adiposo e pode resultar na persistência da atividade canabinoide durante várias semanas após a administração (80), uma consequência da elevada lipofilicidade do Δ^9 -THC e da sua capacidade de ligação aos tecidos. Estes fatores originam a modulação do padrão de distribuição ao longo do tempo (81).

3.2.3 Metabolismo

O metabolismo do Δ^9 -THC é predominantemente hepático. Através das isoenzimas CYP2C9, CYP2C19 e CYP3A4 do citocromo P450 (CYP450), o Δ^9 -THC é hidroxilado na posição 11 a 11-OH- Δ^9 -THC (composto psicoativo) e posteriormente pode ser oxidado no ácido 11-COOH- Δ^9 -THC (composto não psicoativo), sendo subsequentemente excretado nas fezes e na urina (30,74). Numa segunda etapa, pode existir a conjugação dos metabolitos com ácido glucurónico, o que leva a um aumento da sua solubilidade em água (82). O metabolismo também ocorre em tecidos extra-hepáticos que expressam CYP450, incluindo o intestino delgado e o cérebro (81).

Associado ao metabolismo do Δ^9 -THC surge a preocupação da toxicidade que este exerce para o cérebro em desenvolvimento, uma vez que se trata de um composto lipofílico com capacidade de atravessar a placenta e ser excretado no leite materno humano (82).

O CBD também é metabolizado hepaticamente, principalmente pelas isoenzimas CYP2C19 e CYP3A4 e, adicionalmente, CYP1A1, CYP1A2, CYP2C9 e CYP2D6. Após a hidroxilação em 7-hidroxi-canabidiol (7-OH-CBD), o metabolismo hepático continua com subsequente excreção fecal e urinária dos metabolitos (80).

Os fitocannabinóides podem desta forma afetar o metabolismo de vários fármacos através da interação com isoenzimas do CYP450. O Δ^9 -THC é um indutor do CYP1A2, o que pode levar a uma menor concentração de fármaco através do aumento do seu metabolismo e, conseqüentemente, a uma diminuição do efeito do fármaco. O CBD por sua vez, é um inibidor do CYP3A4 e do CYP2D6, o que pode originar reações adversas substanciais devido ao aumento da concentração de fármaco substrato destas enzimas (77).

3.2.4 Excreção

Um modelo farmacocinético populacional aplicado ao Δ^9 -THC foi desenvolvido com o objetivo de descrever o seu perfil até 48 horas após a administração em humanos por três vias diferentes, a via oral, intravenosa e pulmonar. Descreveu uma meia-vida inicial rápida (aproximadamente 6 minutos, ou seja, rapidamente distribuído nos tecidos e removido do sangue) e uma meia-vida terminal mais longa (22 horas, o que significa uma eliminação mais lenta) (83). A meia-vida terminal é principalmente influenciada pelo equilíbrio entre os compartimentos de armazenamento de lípidos (como o tecido adiposo) e o sangue (84). Tal como o Δ^9 -THC, o CBD apresentou uma longa meia-vida terminal (74).

Devido à redistribuição lenta a partir de compartimentos mais profundos, como o tecido adiposo, verifica-se uma semivida de eliminação relativamente mais longa em consumidores com excesso de peso, o que poderá tornar difícil a distinção de concentrações sanguíneas de cannabinóides entre usuários pesados em fase de eliminação tardia, com usuários ocasionais após a utilização aguda de canábis (85).

O Δ^9 -THC, após ser administrado, pode demorar um dia, mas também podem ser necessárias algumas semanas para ser excretado na urina e nas fezes, predominantemente na forma de metabolitos ácidos, uma vez que os cannabinóides neutros são encontrados apenas em quantidades vestigiais (86). O fitocannabinóide é maioritariamente excretado nas fezes (65-80%), enquanto uma quantidade menor é excretada na urina (20-35%), principalmente devido à sua lipossolubilidade e reabsorção nos túbulos renais (76). O tempo de deteção na urina após o consumo de canábis depende essencialmente de dois fatores: o limite de deteção do método de análise e do quão extenso foi o respetivo consumo antes da amostragem (Quadro 3.1) (75).

Quadro 3.1: Tempos de detecção de ácido Δ^9 -THC na urina. *Adaptado de (75)*

Ingestão	Tempo de detecção
Ingestão única	Até 1 semana
Uso moderado (até quatro dias/semana)	1 – 2 semanas
Uso crónico e diário	4 – 6 semanas
Uso crónico e diário – casos extremos	Até 3 meses

4 Atividades Biológicas dos Canabinóides

4.1 (-) - Delta -9-*trans*-tetra-hidrocanabinol (Δ^9 -THC)

O Δ^9 -THC ou THC é um dos fitocannabinóides predominantes em *C. sativa* e é amplamente reconhecido como o principal responsável pelos efeitos psicotrópicos da planta (87). Desde a sua descoberta tem sido extensivamente estudado, principalmente devido aos seus efeitos farmacológicos. Interage com os recetores CB1 e CB2, atuando como um agonista parcial mesmo em doses submicromolares. Quando se encontra presente em concentrações superiores a 10 μ M, o Δ^9 -THC tem capacidade de inibir as COX-1 e COX-2, bem como a enzima DAGL- α , enzima fundamental na síntese de 2-AG. É responsável ainda por ativar canais TRPA1 e TRPV4 (80).

O Δ^9 -THC possui efeitos analgésicos, neuroprotetores e anti-inflamatórios. As suas propriedades anti-neuroinflamatórias foram verificadas através do aumento da produção de citocinas anti-inflamatórias e diminuição das citocinas pró-inflamatórias (IL-12, IFN- γ e TNF- α) na esclerose múltipla. Além disso, Δ^9 -THC promove a apoptose na inflamação induzida por células T e inibe a agregação de β -amiloide (A β) induzida pela acetilcolinesterase (AChE) (62,88).

Apesar da sua ligação a ambos os recetores canabinóides, os efeitos centrais mediados pelo recetor CB1 destacam-se, uma vez que estão diretamente relacionados com os efeitos

psicológicos que são desencadeados após o consumo da planta *C. sativa* (89). Tal como outros canabinóides, protege os neurónios do stress oxidativo causado pela excitotoxicidade induzida pelo glutamato e como é um composto lipofílico pode ligar-se inespecificamente a tecidos cerebrais através da interação com o ECS (90).

O Δ^9 -THC alivia sintomas associados a perturbação do sono, ansiedade, insónias e desempenha a função de antidepressivo (87). Após a sua administração é observado um aumento da frequência cardíaca, claramente dependente da dose administrada, uma vez que se encontra relacionada com a sua concentração plasmática no sangue. Resultados de um ensaio clínico onde é administrado Δ^9 -THC por via inalatória, demonstram que este resultado se deve a um efeito direto do Δ^9 -THC no coração e não se encontra relacionado com o tronco cerebral. Consequentemente, o uso terapêutico do cânhamo em casos de problemas cardiovasculares está contraindicado. Em doses elevadas, o fitocanabinóide atua ainda diminuindo a temperatura corporal (91).

Para além do anteriormente descrito, o Δ^9 -THC demonstrou reduzir a pressão intraocular e pode ser usado no tratamento do glaucoma, uma das principais causas de cegueira (92). Os seus efeitos anticonvulsivantes são estudados como tratamento provável para a epilepsia uma vez que reduz a transmissão excitatória, mediada por mecanismos também dependentes dos recetores CB1 (93). O ECS tem capacidade de controlar a motilidade e a secreção intestinal através dos recetores CB1, protegendo o intestino da hiperestimulação que acontece em doenças inflamatórias intestinais (DII). Desta forma, o Δ^9 -THC pode melhorar os sintomas associados a estas patologias, como a diarreia ou a inflamação (94).

O facto dos recetores CB2 serem expressos em células imunes, terem um papel na imunomodulação, assumindo controlo na libertação de citocinas inflamatórias e regulação no sistema imunológico, pode ser o motivo pela qual *C. sativa* apresenta potencial terapêutico no tratamento de distúrbios autoimunes, mas também poder ter utilidade em indivíduos imunocomprometidos, uma vez que Δ^9 -THC é considerado um imunomodulador, capaz de aumentar ou suprimir diferentes tipos de células do sistema imunológico. (94).

No entanto, apesar de todos os seus potenciais benefícios, o Δ^9 -THC, em doses elevadas, pode afetar negativamente o pensamento, a concentração, função mental, conduzindo potencialmente a perturbações comportamentais, alucinações ou delírios (95).

4.2 Canabigerol

O canabigerol (CBG) é um outro canabinóide que apresenta evidência de atividade biológica (Figura 4.1), embora ainda haja necessidade de mais pesquisa sobre os seus efeitos anti-neuroinflamatórios. Tanto ele como a sua forma ácida, CBGA, fornecem ácidos fitocanabinólicos (62,96) e são precursores de outros canabinóides, como o CBD, canabicromeno (CBC) e Δ^9 -THC (97).

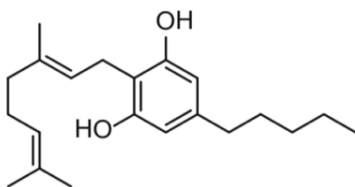


Figura 4.1. Estrutura química do canabigerol.

O canabigerol influencia o funcionamento do sistema endocanabinóide (ECS), é um agonista parcial dos recetores CB1 e CB2 (de baixa afinidade), interage com os recetores TRPV1 (98,99) e embora não seja um dos compostos psicoativos, exibe uma série de propriedades terapêuticas, incluindo, efeitos antibacterianos, antifúngicos, anti-inflamatórios e capacidade de prevenir a proliferação celular (97,100). O CBG interfere ainda em muitos processos corporais, como, respostas imunitárias, desenvolvimento de células cancerígenas, doenças cardiovasculares e percepção de dor (97).

Demonstrou exercer efeitos apoptóticos em células tumorais, mas também resultados essenciais em determinados cuidados paliativos, como o aumento do apetite e propriedades ansiolíticas. Por outro lado, exibe propriedades anti-apoptóticas em células saudáveis sob condições oxidativas e inflamatórias que deverão estar associadas à modulação de citocinas, mas também atividade antioxidante através da regulação negativa da produção de NO (100). A inflamação e o stress oxidativo são processos que desempenham um papel importante na morte de células neuronais, desencadeando a sua

degeneração, desta forma, dada a interdependência destes processos, o CBG pode ser uma estratégia promissora no tratamento de distúrbios neurodegenerativos (101).

4.3 Canabicromeno

O canabicromeno (CBC), um outro canabinóide não psicoativo (Figura 4.2), foi isolado em 1966 por Gaoni e Mechoulam. O ácido canabicrômico (CBCA, do inglês *cannabichromenic acid*) é o seu precursor e predomina nas plantas jovens de *C. sativa*, no entanto, o seu teor vai diminuindo com a maturação da espécie (102,103).

O CBC é um agonista do recetor CB2 que inibe a inativação dos endocanabinóides, ou seja, é um potente inibidor da captação de anandamida (104), no entanto, não tem qualquer atividade nos recetores CB1. Interage também com canais catiónicos TRP (TRPV1, TRPV8 e TRPA1) envolvidos no alívio da dor e na inflamação. Estudos revelam que é o fitocanabinóide de maior eficácia a atuar como agonista do recetor TRPA1, aumentando os níveis de Ca^{2+} intracelular (104,105). Apresenta propriedades anti-inflamatórias, sedativas, analgésicas, antibacterianas e antifúngicas (103,106).

Os seus efeitos antiproliferativos e propriedades pró-apoptóticas em linhagens de células tumorais foram demonstrados em diferentes análises, como no carcinoma da mama humano, carcinoma da próstata, carcinoma colorrectal ou adenocarcinoma gástrico (105,107). Recentemente, desenvolveram-se estudos sobre o perfil biológico do CBC uma vez que se trata de um composto quiral, desta forma, os enantiómeros devem ser investigados de forma independente com o objetivo de avaliar a sua contribuição na atividade de preparações à base de *C. sativa*, principalmente para o tratamento da epilepsia pediátrica, uma vez que foi relatada uma notável atividade antiepilética (108).

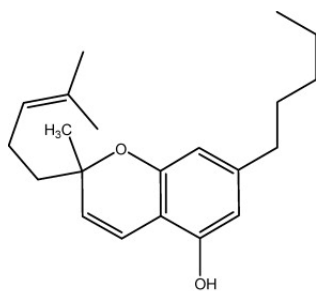


Figura 4.2. Estrutura química do canabicromeno.

4.4 Canabidiol

O canabidiol (CBD) (Figura 4.3) tem despertado um interesse significativo devido às suas propriedades terapêuticas e capacidade de interagir com o ECS do organismo vivo, crucial na regulação de funções fisiológicas (4). Ao contrário do Δ^9 -THC, o principal responsável pelos efeitos psicoativos da planta, o CBD não desenvolve efeitos psicoativos relevantes, como alteração de consciência ou euforia. Devido ao facto do CBD ser um modulador alostérico negativo dos recetores CB1 e agonista inverso dos recetores CB2, permite reduzir a ligação de alguns compostos, incluindo a diminuição do efeito psicoativo do Δ^9 -THC já mencionado. Interage com uma grande diversidade de sistemas de sinalização do corpo, é um agonista dos recetores TRPV1 e recetores 5HT1A, a possível causa dos seus efeitos ansiolíticos (56). Ativa o PPAR γ , que funciona como fator de transcrição e como regulador da expressão de genes, desempenha um papel essencial na diferenciação celular, inflamação, homeostasia energética e carcinogénese (109). É um antagonista do recetor de adenosina A_{2A} e inibe a enzima FAAH (inibe a inativação dos endocanabinóides, diminuindo a degradação de anandamida), entre outras. Como resultado da diversidade de locais de ação, tem um papel importante no alívio da dor, redução da inflamação, melhoria do humor e qualidade do sono (110).

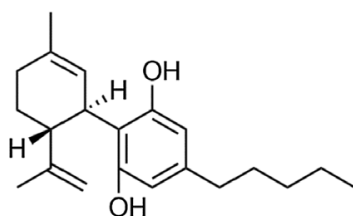


Figura 4.3. Estrutura química do canabidiol.

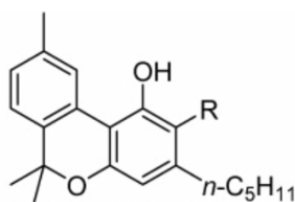
Como principal fitocanabinóide não psicoativo, o CBD é uma alternativa terapêutica promissora para casos de doentes que dependem de analgésicos à base de opióides para o tratamento da dor, uma vez que demonstrou eficácia no alívio da mesma (111). Previne danos neuronais induzidos por doenças crónicas devido aos seus efeitos neuroprotetores, ou seja, reduz o stress oxidativo e permite uma normalização da homeostasia do glutamato (112). Apresenta propriedades anti-inflamatórias através do bloqueio da ativação de citocinas, as principais responsáveis pelas respostas inflamatórias do organismo, como como IL-1, IL-6 e IFN- β , o que pode ser útil para tratamento de doenças

inflamatórias crônicas, como artrite ou doença de Crohn (87,113). Possui propriedades fisiológicas que ainda não estão claramente relacionadas com um mecanismo específico, como os efeitos anticonvulsivantes e imunomoduladores (114).

Estudos recentes realizados com células de cancro da próstata revelam que o CBD poderá ser um futuro agente quimioterapêutico. A capacidade de inibir a proliferação celular e reduzir a expressão de proteínas chave do ciclo celular permite reduzir a agressividade da evolução de células cancerígenas. O fitocanabinóide parece ainda intervir em outros processos chave envolvidos no desenvolvimento da doença, como a apoptose, migração celular, invasão celular e angiogênese (57). O CBD geralmente é seguro, tem grande potencial como nova farmacoterapia em patologias com mecanismos de ação atualmente pouco desenvolvidos. No entanto, o seu uso não é livre de riscos, potenciais interações ou reações adversas devem ter-se em consideração antes de utilizar CBD (115).

4.5 Canabinol

O canabinol (CBN) (Figura 4.4) foi o primeiro composto a ser isolado da canábida no final do século XIX. Ao contrário de outros canabinóides que são resultado de diferentes ciclizações da fração terpenilo do ácido canabigerólico (CBGA), o ácido canabinólico (CBNA), e por sua vez, o CBN, são provenientes de aromatização oxidativa do Δ^9 -THC (116,117).



a R= H

b R= COOH

Figura 4.4. Estrutura química do canabinol, CBN (a) e da sua forma ácida, CBNA (b).

Apesar do CBN ser um agonista dos recetores CB1 e CB2, a sua afinidade pelo recetor CB1 é dez vezes inferior quando comparada com a do Δ^9 -THC e a sua atividade no recetor CB2 é de menor potência e eficácia (118). Por todas estas razões, é muitas vezes descrito como uma espécie mais fraca de Δ^9 -THC (96). Atua como agonista dos canais TRPV1, TRPV2, TRPV3 e TRPV4, estimulando o influxo de Ca^{2+} e consequentemente vias dependentes deste catião nas células (104).

O CBN demonstrou ser um estimulante de hiperfagia, ter atividade antibacteriana, analgésica e anti-inflamatória (119), sendo sugerida a sua utilização no tratamento do glaucoma, pois também previne a inflamação que causa a pressão intraocular elevada (117). O efeito anti-inflamatório poderá estar relacionado com a capacidade do CBN exibir capacidade de regular negativamente o fator nuclear de células B ativadas (NF- κ B, do inglês *nuclear factor κ -light-chain-enhancer of activated B cells*), um fator de transcrição que desempenha um papel crítico na regulação da expressão de vários genes envolvidos em respostas inflamatórias, influenciando os níveis de TNF- α , IL-6 e Pro-IL-1 β (120).

Recentemente a utilização de CBN no tratamento de epidermólise bolhosa, uma doença rara caracterizada pela rápida formação de bolhas na pele e mucosas, demonstrou ser eficaz e não causou efeitos indesejáveis graves (121).

4.6 Canabidivarina

A canabidivarina (CBDV) (Figura 4.5) é um análogo do CBD, mas de forma semelhante a outros fitocannabinóides demonstra pouca ou nenhuma atividade no recetor CB1 e a afinidade para os recetores CB2 ainda não se encontra bem esclarecida (122). Atua como agonista inverso do recetor GPR6 (123), agonista dos canais TRPA1, TRPV1, TRPV2 e antagonista do recetor GPR55. Além disso, parece ser capaz de modular os níveis dos principais endocannabinóides através da inibição da enzima DAGL- α , a principal enzima na biossíntese de 2-AG, e da inibição da captação de AEA (104).

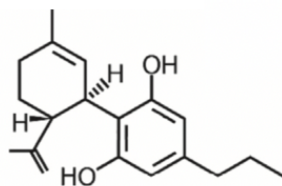


Figura 4.5: Estrutura química da canabidivarina (CBDV)

A CBDV demonstra potencial terapêutico promissor como agente anticonvulsivo, especialmente em casos de epilepsia. Embora os mecanismos exatos de ação subjacentes a esta atividade não estejam completamente elucidados, alguns estudos sugerem que os recetores TRP vanilóides podem desempenhar um papel significativo nos efeitos da CBDV (124). Atualmente este fitocanabinóide é alvo de diversos estudos pré-clínicos no âmbito dos transtornos do espectro autista (TEA), sendo que os dados disponíveis confirmam a presença de desregulações em componentes do ECS em modelos animais de TEA e sugerem que o aumento de sinalização por parte de AEA e 2-AG pode ser uma estratégia para aliviar os sintomas do transtorno do espectro autista (122).

5 Aplicações de *Cannabis sativa*

C. sativa pode ser cultivada com diferentes propósitos: industriais, recreativos ou medicinais (125). Tradicionalmente, as plantas eram cultivadas como fonte de fibra para produção têxtil e de cordas, especialmente no mundo ocidental. Atualmente são estudados os seus eventuais benefícios para a saúde e o possível envolvimento no sistema cardiovascular, doenças dermatológicas, gastrointestinais, cancro, distúrbios do SNC ou saúde mental, tal como a sua aplicação em produtos alimentares ou cosméticos (126). Vários estudos clínicos suportam uma relação benefício-risco positiva na utilização terapêutica de canabinóides, como na profilaxia de náuseas e vômitos induzidos pela quimioterapia, estimulação do apetite, dor ou rigidez muscular na epilepsia e esclerose múltipla (4).

Este capítulo examina as aplicações emergentes da planta, nomeadamente análises desenvolvidas de acordo com os potenciais benefícios que os canabinóides apresentam em doenças que afetam os neurónios, como a doença de Parkinson (DP), doença de

Alzheimer (DA) ou esclerose lateral amiotrófica (ELA), tendo em conta os múltiplos mecanismos e efeitos já descritos. A sua maioria encontra-se em desenvolvimento ou não estão totalmente compreendidas, mas possuem um suporte científico promissor. Através da análise de estudos recentes será demonstrado como estes compostos presentes no cânhamo podem oferecer novas abordagens terapêuticas no contexto das doenças neurodegenerativas, promovendo melhoria na qualidade de vida dos pacientes e potencialmente, retardar a progressão da patologia.

5.1 Alimentação

A espécie *C. sativa* é uma planta que apresenta um elevado conteúdo nutricional, razão pela qual diferentes partes da planta são usadas para fins terapêuticos, mas também em diferentes conteúdos alimentares, cosméticos ou rações de animais (125).

Os produtos alimentares são desenvolvidos através da adição de óleo ou farinha proveniente das sementes do cânhamo, no entanto, os efeitos psicoativos e a variabilidade no conteúdo de canabinóides de plantas individuais são alguns dos fatores que estão na base do debate sobre a utilização da planta na indústria alimentar, uma vez que pode afetar a qualidade dos produtos (127). Apesar da controvérsia, a planta é reconhecida como uma fonte alimentar útil pela sua constituição rica em proteínas facilmente digeridas, lípidos, ácidos gordos poli-insaturados ω -6 e ω -3 (PUFAs, do inglês *polyunsaturated fatty acids*), fibras insolúveis e glúcidos. As suas sementes são constituídas por todos os importantes aminoácidos essenciais para manter um estilo de vida saudável. A partir destas é possível obter a farinha, com aplicação na produção de vários itens alimentares, como chocolates, barras energéticas ou iogurtes, mas também o óleo, rico em PUFAs (128).

De acordo com o regulamento da UE nº 2015/2283 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de novembro de 2015, as sementes da espécie *C. sativa* (incluindo o seu óleo, farinha e sementes parcialmente desengorduradas) podem ser usadas para fins alimentares, mas as outras partes da planta (flores e folhas) e os seus extratos são designados por “novos alimentos” (129). Em 2019, o CBD foi adicionado a esta categoria e sujeito a autorização das autoridades de segurança alimentar. Esta deve ser obtida antes do lançamento no mercado da UE conforme estabelecido no Regulamento (EU) nº 2015/2283 (130). A utilização do cânhamo apenas é permitida se o teor de Δ^9 -THC não

exceder os valores prescritos pela legislação (não superior a 0,3%) (131). O fitocanabinóide é considerado um contaminante nos alimentos e por essa razão, no âmbito do Regulamento n.º 2023/915, estão definidos limites máximos para a sua presença nas sementes (3,0 mg/kg) e no óleo (7,5 mg/kg) (127,132). Com a entrada em vigor do decreto-lei n.º 8/2019, muitos dos produtos que eram considerados suplementos alimentares foram retirados do mercado uma vez que passaram a ser consideradas preparações à base da planta de canábис. Para manter a classificação têm que ser obtidos a partir de sementes que integrem o Catálogo Comum de Variedades de Espécies Agrícolas e os respetivos limites de teor de canabinóides (131,133).

5.2 Estimulante do apetite

O recetor CB1 tem um papel importante na regulação do apetite e do peso corporal. A sua estimulação através da administração de fitocanabinóides (estimulação exógena) ou ação de endocanabinóides (estimulação endógena) controla a ingestão de alimentos, aumentando o apetite. No entanto, quando há uma inibição dos recetores CB1 parece ser induzida uma diminuição do peso. No âmbito do apetite, foi descoberto que o rimonabanto, um antagonista seletivo do recetor CB1, poderia reduzir o peso corporal, visto que auxiliava os comportamentos de compulsão alimentar. Ao bloquear a ação de endocanabinóides nos recetores CB1, como de 2-AG, inibe a ação estimulante de apetite (134). Este medicamento foi retirado do mercado em 2008, o Comité dos Medicamentos para Uso Humano (CHMP) da Agência Europeia do Medicamento (EMA) determinou que os riscos do uso deste medicamento superavam os benefícios (135).

5.3 Doenças Dermatológicas

O potencial terapêutico dos extratos de *C. sativa* e fitocanabinóides para uma variedade de distúrbios de pele, incluindo acne, dermatite atópica, psoríase, prurido ou dor tem sido alvo de investigação. Os resultados seguidamente enumerados são resultado de diversos estudos a uma gama de atividades celulares e condições dermatológicas, *in vitro* e *in vivo*, resposta que os canabinóides demonstram potencial efeito terapêutico através da inibição de processos inflamatórios na pele, fibrose e proliferação celular (136). Como os recetores canabinóides existem em muitas estruturas da pele, nomeadamente, queratinócitos,

melanócitos, células dérmicas, mastócitos, glândulas sudoríparas, entre outras, o ECS participa em múltiplos processos, como a apoptose ou regulação da proliferação e diferenciação das células (47).

O CBD apresentou em diversos estudos prováveis propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e foto-protetores a nível cutâneo. Este canabinóide exerceu um efeito protetor à citotoxicidade induzida por raios ultravioleta (UV-B) em queratinócitos e melanócitos, foi capaz de prevenir a degradação de colagénio induzida por raios UV (137) e inibiu a lipogénese, neutralizando os agentes indutores de acne, como o ácido araquidónico e testosterona. O principal mecanismo responsável pela supressão da proliferação de sebócitos, células das glândulas sebáceas responsáveis pela produção de sebo, é o agonismo exercido no canal TRPV4 (138).

O óleo que é obtido a partir das sementes do cânhamo é rico em diferentes compostos químicos, principalmente PUFAs: ácido linoleico, ácido estearidónico e ácido α -linolénico (ALA) (126,139). A administração oral de óleo de semente do cânhamo no tratamento de distúrbios de pele, como o eczema atópico, demonstrou diminuir significativamente os sinais de dermatite associado ao conteúdo abundante de ácidos gordos, PUFAs (140).

O papel do CBD e CBG na diferenciação de queratinócitos, etapa fundamental para a constituição da barreira cutânea, parece ser igualmente relevante, uma vez que apresentam capacidade de inibir a expressão de marcadores envolvidos na diferenciação dos queratinócitos na epiderme, como involucrina ou queratina 10 (K10 do inglês, *keratin 10*), neutralizando a inflamação, mas diminuindo a diferenciação de queratinócitos (136,141,142). A supressão do fator NF- κ B por parte de alguns fitocannabinóides, como o CBN ou CBD, ao permitir diminuir a inflamação e associado a outros mecanismos já mencionados, como a existência elevada de PUFAs e a diminuição da produção citocinas inflamatórias, também permite melhorar a cicatrização de feridas na pele (47).

5.4 Utilização nas Doenças Neurodegenerativas

As doenças neurodegenerativas afetam milhões de pessoas no mundo, o bem-estar dos pacientes e dos seus familiares, além do ónus social e económico que estão associados à doença (143). O aumento da esperança média de vida é cada vez mais acompanhado do crescimento destas doenças, causando a perda gradual de funções motoras e/ou cognitivas dos doentes (3).

O processo neuroinflamatório envolve a ativação das células imunes inatas, microglia e dos astrócitos. A microglia são células de linhagem mieloide, residem no SNC e expressam diversos recetores, entre os quais, na presença de determinado estímulo patológico, identificam proteínas anormais, reconhecem agentes patogénicos e restos celulares, induzindo uma resposta imune. Os astrócitos são células gliais especializadas de origem neuroepitelial (144). A ativação de ambos resulta na secreção de citocinas pró-inflamatórias que podem ativar uma série de vias. Assim, a prevenção da neuroinflamação é um dos métodos mais eficazes no tratamento das doenças neurodegenerativas devido ao seu papel crítico no desenvolvimento da patologia (145).

A doença de Parkinson (DP), doença de Alzheimer (DA) e a Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) apresentam características fisiopatológicas distintas, no entanto, nenhuma delas tem um tratamento eficiente a longo prazo e com a sua progressão existe associada a extensa necessidade de cuidados paliativos (143). Os mecanismos envolvidos na patogénese das doenças neurodegenerativas envolvem várias teorias, entre elas, a hipótese de que agregados proteicos anormais resultantes de uma conformação anormal de péptidos β -amiloide, α -sinucleína e tau acumulam-se em diferentes áreas cerebrais (3).

A descoberta dos fitocannabinóides, principalmente Δ^9 -THC e CBD, impulsionou a sua investigação como potencial terapêutico para doenças neurodegenerativas devido ao conhecimento das suas propriedades neuroprotetoras. O Δ^9 -THC está principalmente associado à modulação de estímulos relacionados com a dor, sedação, apetite, humor, a uma ação antioxidante com potencial neuroprotetor e anti-inflamatório. Já o CBD, embora seja considerado um modulador alostérico negativo de recetores CB1, a ausência de efeito psicoativo após a sua administração aumenta a possibilidade de aplicação

médica, para além da atividade anti-inflamatória e imunossupressora que apresentam (143).

5.4.1 Doença de Parkinson

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais prevalente no mundo e a de evolução mais rápida, afeta 5% da população com mais de 85 anos e a combinação de fatores genéticos (mutações em genes) e ambientais (exposição a toxinas e estilo de vida) são conhecidas como principais fatores de risco ao desenvolvimento desta doença (3,143).

É uma doença crónica e progressiva, caracterizada pela degeneração dos neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra pars compacta* (SNpc). A substância nigra é uma área pequena e escura localizada no mesencéfalo, responsável por regular o movimento e a coordenação motora. Quando os neurónios dopaminérgicos degeneram, a libertação de dopamina diminui e a comunicação entre a substância nigra e outras partes do cérebro fica comprometida, causando os sintomas motores característicos, uma vez que afeta o funcionamento normal de gânglios basais responsáveis pelo controlo motor (143,146). Esta patologia multissistémica afeta uma variedade de neurotransmissores, associados a sintomas motores e não motores que caracterizam a DP, embora o diagnóstico apenas ocorra quando surge um comprometimento motor, como o aparecimento de rigidez, bradicinesia, instabilidade postural e tremores, podendo demorar vários anos para que estes distúrbios se detetem. Os sintomas não motores, como o comprometimento do olfato, disfunções gastrointestinais, cardiovasculares, geniturinárias, respiratórias, comprometimento cognitivo, distúrbios visuais e depressão, não se encontram bem compreendidos e por essa razão não são considerados em protocolos de diagnóstico (147).

A morte progressiva dos neurónios dopaminérgicos, processo neurodegenerativo, resulta do stress oxidativo, danos mitocondriais, inflamação e apoptose, promovendo a disfunção de vias importantes relacionadas com o controlo voluntário de movimentos. Além disso, a expressão aumentada e/ou a modificação da α -sinucleína origina agregados com consequente formação de corpos de Lewy, estruturas constituídas por inclusões citoplasmáticas relacionadas com processos neurodegenerativos (143).

5.4.1.1 Sistema Endocanabinóide na DP

O ECS é um modulador chave na transmissão sináptica e está envolvido no comportamento motor, cognição e emoções (148). Tem um papel crucial no funcionamento dos gânglios basais que estão implicados em distúrbios do movimento (45).

Evidências obtidas em modelos animais e pacientes com DP demonstraram alterações em diversos componentes do ECS. Foi observado que em doentes existe um aumento nos níveis de AEA com simultânea diminuição da atividade do transportador de membrana do endocanabinóide e da enzima responsável pela sua degradação, FAAH (143,149).

Os gânglios basais são a região do cérebro que contém uma das maiores concentrações de recetores CB1 e de endocanabinóides. Tal como foi descrito, são recetores expressos nos terminais glutamatérgicos e GABAérgicos pré-sinápticos, sendo que a sua ativação está associada à supressão da libertação de neurotransmissores. Para além dos níveis elevados de AEA, pacientes também apresentam uma maior expressão de CB1 na região mesolímbica e mesocortical, o que contrasta com a menor disponibilidade dos recetores CB1 e CB2 na substância nigra (3,148). Apesar dos recetores CB1 não apresentarem expressão ao nível dos neurónios dopaminérgicos nigroestriatais humanos, estes podem ser afetados pela ativação ou bloqueio do ECS, uma vez que possuem a capacidade de produzir endocanabinóides que facilitam a sinalização retrógrada em sinapses excitatórias e inibitórias. Já os recetores CB2 encontram-se identificados nos neurónios dopaminérgicos nigroestriatais humanos, o que parece apoiar o papel direto de endocanabinóides na transmissão da dopamina (150).

Os canais TRPV1, igualmente localizados nos terminais GABAérgicos e glutamatérgicos, mas também no hipocampo, núcleos basais e cerebelo, estruturas relacionadas ao sistema motor, foram identificados como alvos de alta afinidade para AEA, que apresenta um efeito oposto ao recetor CB1. A ligação de AEA ao recetor CB1 inibe a atividade neuronal, enquanto a ativação de TRPV1 despolariza os neurónios e promove a libertação de neurotransmissores (3).

Nas últimas décadas tem surgido a necessidade de compreender as diversas vias patológicas que estão na base do desenvolvimento da DP. Este conhecimento sugeriu vários alvos para intervenção neuroprotetora, como o stress oxidativo, excitotoxicidade, neuroinflamação, entre outros. Dada a interligação que existe entre o ECS e o mecanismo patológico da DP, é possível descrever alguns dos efeitos benéficos dos fitocanabinóides no organismo (Figura 5.1).

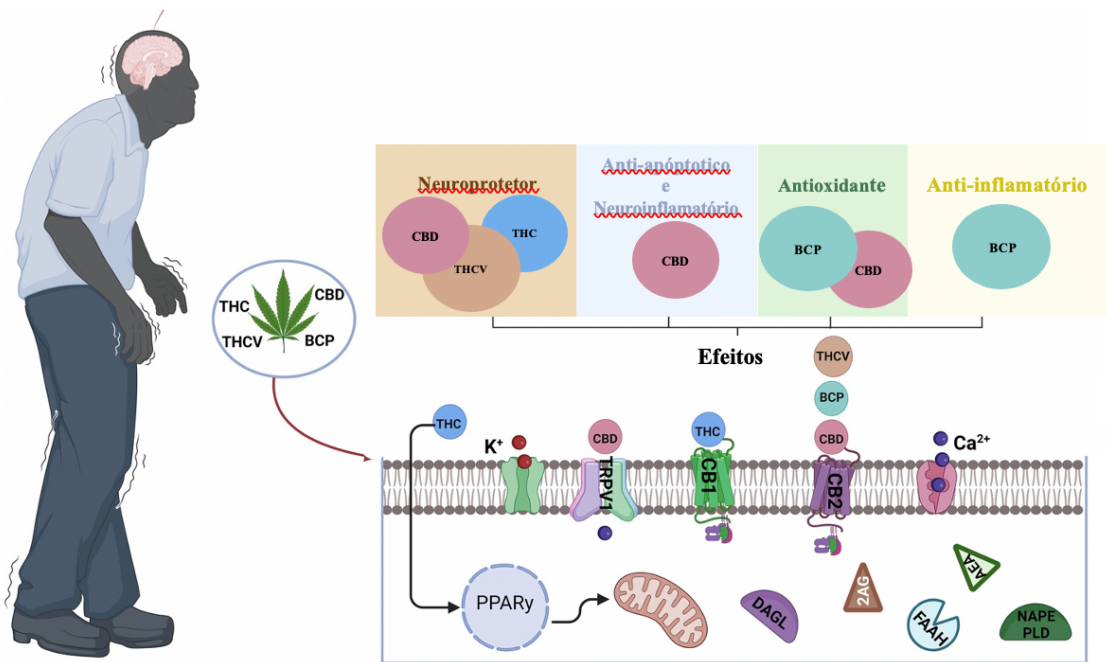


Figura 5.1: Potencial terapêutico dos fitocanabinóides na doença de Parkinson. 2-AG, 2-araquidonoil-glicerol; AEA, anandamida; BCP, β -cariofileno; CB1, recetor canabinóide 1; CB2, recetor canabinóide 2; CBD, canabidiol; FAAH, do inglês *fatty acid amide hydrolase* (amida-hidrolase de ácidos gordos); NAPE-PLD, do inglês *N-acyl phosphatidylethanolamine phospholipase D* (fosfolipase D específica de N-acil-fosfatidil etanolamina); DP, doença de Parkinson; PPAR γ , do inglês *peroxisome proliferator activated receptor γ* (receptor γ ativado por proliferador de peroxissoma); Δ^9 -THC, Δ^9 -tetra-hidrocanabinol; THCV, Δ^9 -tetra-hidrocanabivarina; TRPV1, potencial receptor transitório vanilóide 1. *Adaptado de (3).*

5.4.1.1.1 Stress Oxidativo

Estudos que investigam os mecanismos dos canabinóides envolvidos nos sintomas da DP demonstram que o Δ^9 -THC reduz a morte celular em resposta a toxinas, exibindo efeitos neuroprotetores mediados pela ativação de PPAR γ . Além disso, é acrescido o facto de ser um composto responsável pela regulação da homeostasia de espécies reativas de oxigénio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*) no sistema antioxidante (Figura 5.1). (151).

O stress oxidativo desempenha um papel crítico na patogénese da DP, dado que os neurónios dopaminérgicos da SNpc são altamente vulneráveis a danos oxidativos, um desequilíbrio leva à inibição da cadeia de transporte de eletrões mitocondrial, aumentando os níveis de glutamato com conseqüentemente excitotoxicidade e morte neuronal (152). Para além do Δ^9 -THC, outros fitocannabinóides, como o CBD, possuem propriedades antioxidantes capazes de reduzir o stress oxidativo e aumentar a sobrevivência dos neurónios, restaurando o equilíbrio de ROS (153).

5.4.1.1.2 Sintomas Motores e Sintomas não Motores

O principal local de ação dos canabinóides encontra-se no ECS, mas também nos gânglios basais. A administração destes compostos é potencialmente eficaz na regulação do movimento, sendo este um dos principais problemas associados a DP. No entanto, os resultados de alguns estudos são um pouco controversos: os tremores podem ser tratados com agonistas dos recetores CB1, mas a bradicinesia parece ser atenuada com a ação de antagonistas dos mesmos recetores (150). Por outro lado, um outro estudo revelou que a bradicinesia é um dos sintomas com menor índice de tratamento após a administração de canabinóides. Estes, provenientes da inalação de canábis, apresentaram um efeito benéfico na rigidez muscular, tremores e um impacto positivo em sintomas não motores, como a dor e a qualidade do sono (154).

A utilização de CBD como terapia adjuvante também tem sido apoiada por alguns estudos. Um ensaio clínico com 21 pacientes distribuídos por três grupos (placebo, CBD 75 mg / dia e CBD 300 mg / dia) demonstraram que passadas 6 semanas de tratamento, o grupo que recebeu extrato oral de canábis em maior quantidade verificou mudanças benéficas na sua qualidade de vida, incluindo o bem-estar emocional e melhoria das

atividades diárias. Outra pequena série de casos relatou benefícios para o distúrbio comportamental do sono e do movimento rápido dos olhos. (155). Em relação também aos sintomas não motores, um pequeno estudo de 4 semanas de CBD, com foco no tratamento da psicose associada a DP, encontrou uma melhoria na Escala de Avaliação Psiquiátrica Breve e no Questionário de Psicose de Parkinson (156).

Um outro sintoma característico da DP são as discinesias induzidas por levodopa (LIDs, do inglês *levodopa-induced dyskinesias*), movimentos involuntários, repetitivos e espasmódicos que surgem devido ao uso prolongado de levodopa, o medicamento utilizado para tratar os sintomas da patologia. Estas manifestam-se em resultado na estimulação repetitiva do recetor de dopamina, aumentando a sensibilidade estriatal ao recetor canabinóide. Apesar de ser uma área que exige mais investigação, um estudo clínico que utilizou a nabilona (agonista dos recetores CB1 e CB2) demonstrou uma redução significativa de ocorrência de LIDs. A ativação de recetores canabinóides pode modular a recaptção de GABA e potencialmente aumentar a neurotransmissão, o que poderia teoricamente melhorar os sintomas de discinesia, no entanto, são necessárias avaliações clínicas mais aprofundadas (45).

5.4.1.1.3 Neuroproteção

No campo da neuroproteção, os canabinóides apresentam efeitos promissores consideráveis para a DP, particularmente em processos que estão envolvidos na degeneração progressiva de neurónios da SNpc, como a mitigação de fatores de excitotoxicidade, o influxo de cálcio, ativação glial e danos oxidativos (45).

A degeneração dopaminérgica é associada à ativação glial que provoca neuroinflamação. Esta surge em consequência do aumento dos níveis de agentes pró-inflamatórios, como IL-1 β , TNF- α , óxido nítrico sintase induzível (iNOS, do inglês *inducible nitric oxide synthase*) e COX-2 (157).

O papel dos canabinóides para reduzir a neuroinflamação tem suscitado cada vez mais interesse. Estudos *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado que o recetor CB1 possui propriedades anti-inflamatórias e inibe o stress oxidativo mediado pela microglia. Este facto tem levado autores a considerar que o sistema canabinóide pode ser benéfico no

tratamento da DP bem como em outras doenças que estão associadas a danos oxidativos derivados da microglia (158). O glutamato, que parece estar envolvido no processo de neuroinflamação, uma vez que a α -sinucleína presente no cérebro de pacientes com DP aumenta a ativação dos seus recetores, vai conseqüentemente levar ao aumento de citocinas pró-inflamatórias envolvidas na perda neuronal (157). Os agonistas dos canabinóides apresentam um papel anti-excitatório uma vez que reduzem a libertação de glutamato através da inibição da transmissão sináptica glutamatérgica, TNF- α e ROS (158).

Uma investigação sobre o impacto dos canabinóides na sobrevivência neuronal utilizou 6-hidroxi-dopamina como indutor de lesão. Agonistas de recetores canabinóides, como Δ^9 -THC, demonstraram suprimir a libertação de citocinas pró-inflamatórias, TNF- α e IL, enquanto CBD e JWH-133 (agonista do recetor CB2) neutralizaram o aumento de Ca^{2+} intracelular em células microgliais. Estes últimos efeitos foram totalmente anulados com a administração de um antagonista do recetor CB2, o que ressalta a dependência deste recetor na mitigação da inflamação e degeneração neuronal (45).

Para além de Δ^9 -THC, cujos efeitos neuroprotetores podem ser mediados pelo recetor CB1, (3) e do CBD, a tetra-hidrocanabivarina (THCV) também parece retardar os sintomas neurodegenerativos característicos da DP fornecendo neuroproteção. Um outro estudo realizado utilizando 6-hidroxi-dopamina que ativou os recetores CB2, para além dos efeitos neuroprotetores identificados, provocou a inibição do comprometimento motor, de alterações glutamatérgicas e ativação da microglia (159). O β -cariofileno, sesquiterpeno presente na planta, também apresentou efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios mediados pelo recetor CB2 (160) (Figura 5.1).

Embora as evidências pré-clínicas sejam robustas no suporte ao potencial neuroprotetor dos canabinóides, a exploração clínica de tratamentos é limitada, o que ressalta a necessidade de mais pesquisas sobre a sua aplicabilidade na DP a nível clínico.

5.4.2 Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa incapacitante e a forma mais comum de demência que afeta severamente a saúde humana. A DA é clinicamente caracterizada pelo declínio cognitivo, como a linguagem, memória e função executiva, mas também o comprometimento funcional nas atividades da vida diária. É causada pela disfunção neuronal irreversível e progressiva morte celular, o que causa atrofia cerebral. É a diminuição do processo de neurogênese hipocampal que contribui para o comprometimento da memória característico da doença (161).

Estudos revelam que as características histopatológicas da DA envolvem a acumulação de péptidos β -amiloide ($A\beta$) que levam à formação de placas amiloides no cérebro, muito características da doença, hiperfosforilação da proteína tau, codificada pelo gene da proteína associada a microtúbulos tau (MAPT, do inglês *microtubule-associated protein tau*) e agregação intracelular com conseqüente formação de emaranhados neurofibrilares (NFTs, do inglês *neurofibrillary tangles*), responsáveis pela neuroinflamação. A ativação de respostas inflamatórias gliais afeta os neurónios colinérgicos, originando uma diminuição dos níveis de acetilcolina (ACh). Todas estas características fisiopatológicas causam disfunção mitocondrial, desequilíbrio do sistema antioxidante, aumento de ROS e disfunção glutamatérgica que contribuem para um estado neurodegenerativo (162).

A produção descontrolada de proteína precursora amiloide (APP, do inglês *amyloid precursor protein*) atua igualmente como um estímulo para processos neurodegenerativos, uma vez que a elevada acumulação da proteína e a sua anormal clivagem conduzem a um aumento de $A\beta$ por meio da ativação de β - e γ -secretase. Isto, por sua vez, é responsável pela superprodução de radicais livres e danos oxidativos em neurónios, inflamação cerebral, disfunção mitocondrial neuronal e alterações na homeostasia do Ca^{2+} , originando a morte dos neurónios (109).

Os crescentes avanços científicos permitem compreender os mecanismos celulares e moleculares subjacentes à fisiopatologia da DA a um nível cada vez mais profundo. No entanto, a farmacoterapia utilizada atualmente apenas reduz alguns sintomas e não tem capacidade de prevenir a progressão da doença. De forma a melhorar a qualidade de vida

dos pacientes e dos cuidadores, são cada vez mais os estudos terapêuticos para DA, incluindo o ECS e a avaliação de fitocannabinóides como opções de tratamento (163).

5.4.2.1 Sistema Endocanabinóide na DA

No contexto da DA o ECS endógeno é um alvo terapêutico promissor. Embora muitas das evidências sejam derivadas de modelos animais que simulam a patologia da DA, existem dados clínicos preliminares que apoiam o papel dos canabinóides na melhoria de diversos sintomas comportamentais associados à doença. As descobertas sugerem os endocanabinóides podem oferecer um mecanismo de proteção contra os danos induzidos pela A β , como a neurotoxicidade e o comprometimento cognitivo, enfatizando o potencial terapêutico de aumentar os níveis de endocanabinóides no cérebro (45).

5.4.2.1.1 Estudos clínicos e pré-clínicos

Na DA foram encontradas alterações no ECS, embora com alguns resultados discrepantes. Ao nível dos recetores CB2, uma regulação positiva foi consistentemente encontrada no tecido cerebral de doentes com DA. Um estudo que envolveu ratos tratados com A β , constatou os níveis aumentados do recetor sugerindo que a expressão do mesmo é ativada por eventos patogénicos ligados à doença (164). A estimulação *in vitro* e *in vivo* do recetor CB2 bloqueou a ativação da microglia induzida por A β (165). Os recetores CB1, pelo contrário, apresentaram uma diminuição em áreas de ativação microglial em cérebros de pessoas com DA (165). Em relação a endocanabinóides, níveis diminuídos de AEA foram detetados em ratos tratados com A β (164) e evidências também demonstram que os níveis de 2-AG foram reduzidos no plasma de indivíduos com DA, além da sua relação com o declínio cognitivo apresentado pelos pacientes, pensa-se que este endocanabinóide exerça um efeito protetor (166).

5.4.2.2 Fitocanabinóides na DA

Fitocanabinóides presentes na espécie *C. sativa*, principalmente CBD e Δ^9 -THC, para além dos efeitos neuroprotetoras, anti-inflamatórios e antioxidantes anteriormente descritos, a emergência de novas evidências sugere possíveis efeitos benéficos no aumento de A β e na hiperfosforilação de proteína tau (163).

Estudos recentes demonstram que o CBD apresenta propriedades benéficas significativas na DA. *In vitro*, o CBD inibe a hiperfosforilação da proteína tau, reduzindo a atividade da enzima glicogénio sintase cinase 3 β (GSK-3 β), responsável pela hiperfosforilação de tau, e assim, limitando a formação de NFTs, uma característica da DA. A diminuição da proteína tau ocorre igualmente por ativação do canal TRPV1 e sendo o CBD um agonista destes recetores, é promissora a sua capacidade terapêutica. (162,167). Além disso, o CBD protege contra o stress oxidativo, aumenta a sobrevivência celular, reduz a peroxidação lipídica e ROS. O mecanismo através do qual diminui a produção de óxido nítrico está associada à inibição do fator NF- κ B (168).

O CBD tem capacidade de diminuir a produção de A β por mais do que um mecanismo: ao inibir enzimas como a β -secretase, protege contra a toxicidade mitocondrial e melhora a função mitocondrial afetada na DA (169); e ao ativar o PPAR- γ , o que induz a ubiquitação de APP, permite regular a degradação proteica das células, diminuindo desta forma os níveis da glicoproteína e consequentemente os de A β , aumentando a neurogênese (109). Em modelos animais, o CBD demonstrou atenuar a neuroinflamação ao reduzir a expressão de proteínas inflamatórias como iNOS e IL-1 β , sendo que mais tarde, o mesmo grupo de pesquisa, associou a uma prevenção de deficits cognitivos relacionados à DA, estimulando a neurogênese, fundamental para a recuperação neuronal (162,170).

O Δ^9 -THC também revelou efeitos terapêuticos promissores. Estudos *in vitro* indicam que o Δ^9 -THC reduz a agregação de A β , prevenindo a neurotoxicidade. Além disso, demonstrou melhorar a função das mitocôndrias, disfunção que também surge na DA (171). Em doses baixas, o Δ^9 -THC melhorou a aprendizagem e a memória em modelos animais uma vez que aumentou os marcadores envolvidos nos mecanismos de neurogênese, especialmente no hipocampo (172). Além disso, demonstrou a capacidade de inibir a atividade da acetilcolinesterase (enzima responsável pela degradação da acetilcolina), potencialmente retardando a progressão da doença (45). No entanto, embora sejam relatados os benefícios terapêuticos do Δ^9 -THC para DA, estes podem ser contrariados pelos efeitos adversos associados ao seu consumo, dado que uma dose mais alta pode induzir psicose, desorientação, vertigens ou ansiedade (173).

Alguns estudos *in vivo* e *in vitro* têm demonstrado o potencial terapêutico do sinergismo entre diferentes compostos derivados de *C. sativa*. Um modelo murino de tauopatia, testou Sativex® (1:1 Δ^9 -THC e CBD) em ratos geneticamente modificados de forma a imitar uma forma complexa de demência. Os animais tratados apresentaram uma redução da deposição de A β e proteína tau no hipocampo e no córtex cerebral (174). A combinação de ambos os fitocanabinóides demonstrou ainda melhorar os níveis de cognição de animais transgênicos idosos com DA, através da normalização da subunidade $\alpha 1$ do recetor GABA_A e dos recetores 2 e 3 de glutamato (62). Apesar do Δ^9 -THC apresentar potencial para melhorar a cognição em doses controladas, a sua combinação com CBD pode ser vantajosa para mitigar efeitos adversos e maximizar a eficácia terapêutica. Assim, uma formulação que combine diferentes canabinóides pode representar uma estratégia promissora no tratamento da DA (162).

Além dos principais fitocanabinóides CBD e Δ^9 -THC, outros canabinóides como o CBN, CBG, CBC, CBDV demonstraram propriedades neuroprotetoras. Estes compostos ajudam na prevenção da morte celular induzida pela toxicidade amiloide e estimulam a degradação dos agregados de A β , além de protegerem contra o stress oxidativo (175).

5.4.3 Esclerose Lateral Amiotrófica

A esclerose lateral amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa progressiva que afeta os neurónios motores superiores e inferiores. É caracterizada pela perda muscular e fraqueza progressiva até causar a morte, principalmente devido à insuficiência muscular respiratória. Os pacientes apresentam uma série de complicações clínicas, entre elas, espasticidade, salivação excessiva, dor secundária à imobilidade, fraqueza, entre outros. Cerca de 20% dos pacientes com ELA acabam também por desenvolver demência (176).

Embora os mecanismos fisiopatológicos subjacentes à ELA ainda sejam de pouco conhecimento, é sugerida uma etiologia multifatorial, onde fatores ambientais podem contribuir para desencadear a patologia, mas também associados a possíveis fatores genéticos (177). A forma familiar da doença envolve mutações em genes que codificam algumas enzimas, como a principal enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD1), mas também outras envolvidas no *splicing*, transporte e estabilidade do pré-mRNA. No

entanto, as formas esporádicas da doença são as mais abundantes e são clínica e histopatologicamente difíceis de distinguir das formas familiares desta doença (178).

Para além dos fatores enumerados, vários outros mecanismos podem estar na origem da morte celular nos neurónios motores e medula espinal, como disfunção mitocondrial, agregação de proteínas, stress oxidativo, atividade excessiva do glutamato, inflamação e apoptose (177).

O conhecimento dos genes mutantes é útil para o desenvolvimento de modelos experimentais em animais para o estudo da doença ELA. Esta ainda carece de um tratamento eficaz para os sintomas e progressão da doença. Atualmente, o tratamento da mesma envolve o agente anti-excitatório riluzol (diminui a libertação de glutamato) e anti-inflamatórios, como a edaravona (atua como antioxidante). No entanto, todos eles apresentam uma baixa eficácia e não permitem o tratamento da mesma (179).

5.4.3.1 Sistema Endocanabinóide na ELA

Mudanças no ECS na patogénese de ELA são importantes a ter em consideração para refletir sobre respostas protetoras endógenas que devem ser aumentadas do ponto de vista farmacológico. Uma delas é a elevação de AEA e A-AG identificada na medula espinal de ratos transgénicos (modelo murino de ELA). Estas foram associadas a um aumento na expressão de NAPE-PLD (enzima envolvida na síntese de AEA) mas sem alteração das enzimas DAGL (enzima responsável pela síntese de 2-AG) e das enzimas inativadoras FAAH e MAGL. O aumento de endocanabinóides levou a interpretar que esta surge como resposta protetora endógena, associada à hipótese de que a inibição de enzimas inativadoras pode ser um mecanismo neuroprotetor em casos de ELA. Neste mesmo estudo foi ainda identificado um aumento de recetores CB2 (180).

Um outro estudo que analisou amostras *post-mortem* na medula espinal de pacientes com ELA verificou igualmente um aumento da expressão do recetor CB2 em células microgliais ativadas, correlacionando-se com a gliose elevada nestes pacientes. O direcionamento seletivo destes recetores pode significar o seu efeito benéfico no controlo da toxicidade microglial em neurónios motores. Além disso, foram identificados níveis elevados do recetor CB2 em astrócitos do córtex motor de pacientes com a doença. Esta

regulação positiva foi interpretada como sendo também protetora, que visa por exemplo a facilitar o suporte metabólico dos astrócitos aos neurónios ou a melhorar a função dos transportadores de glutamato gliais para reduzir os eventos excitatórios (Figura 5.2). Neste mesmo estudo, nos tecidos dos mesmos pacientes foram encontrados recetores CB2 em neurónios motores superiores e inferiores (181).

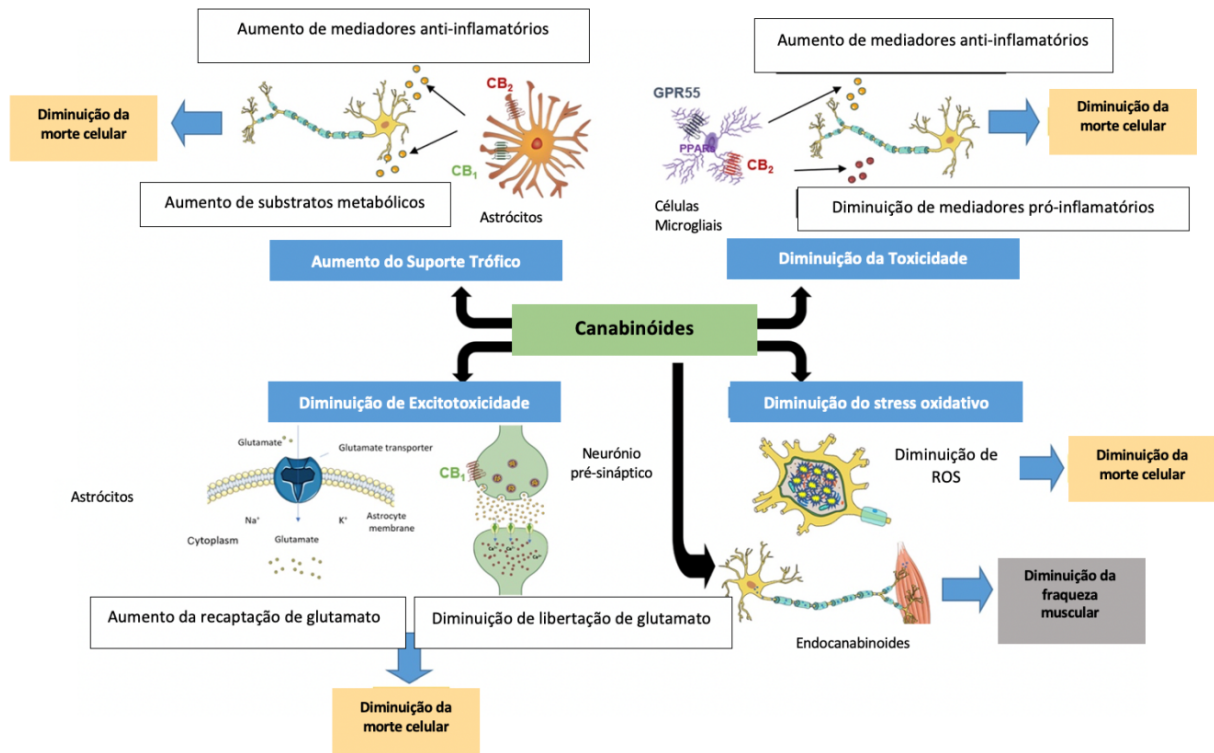


Figura 5.2: Mecanismos celulares e moleculares pelos quais os canabinóides podem fornecer neuroproteção na ELA. ROS, espécies reativas de oxigénio; CB1, recetor canabinóide 1; CB2, recetor canabinóide 2; GPR55, recetor 55 acoplado a proteína G. *Adaptado de (179).*

O estudo descrito anteriormente, não verificou qualquer alteração em FAAH e MAGL, mas sim a redução aparente de recetores CB1 na medula espinal (181).

A regulação negativa dos recetores CB1, ou seja, uma diminuição dos mesmos, em paralelo com a elevação dos recetores de glutamato foi também constatada em outra investigação. Dado que é conhecido o papel do recetor CB1 ao nível do controlo da homeostasia do glutamato (a sua ativação diminui os níveis de glutamato) e é verificada uma redução dos mesmos, esta pode ser a explicação dos efeitos excitotóxicos que surgem (182). No entanto, os resultados parecem inconclusivos, uma vez que a regulação

negativa dos recetores CB1 encontrada naquele estudo (182) não foi validada nos mesmos animais mutantes em um estudo posterior, não verificando qualquer alteração (180). Além disso, uma outra análise descreveu a sensibilidade dos recetores CB1, que para além do controlo da transmissão de glutamato, também controlam a de GABA, e verificou que se encontrava notavelmente potencializada em animais mutantes com ELA. O aumento da sensibilidade dos recetores acompanhada de uma redução da frequência de correntes excitatórias pós-sinápticas espontâneas mediadas pelo glutamato, pode indicar que há menos eventos de excitação sináptica espontânea com diminuição na libertação de glutamato, sugerindo a ocorrência de um mecanismo compensatório (183).

Deste modo, é importante identificar canabinóides com capacidade de reduzir a excitotoxicidade (efeitos que vão depender da ativação de recetores CB1 e normalização dos níveis de glutamato), a ativação microglial e a neuroinflamação. Estes mecanismos, mediados pela ativação dos recetores CB2 e sinalização dos recetores PPAR γ , NF- κ B e GPR55, vão reduzir a inflamação e lesões oxidativas através de mecanismos independentes de recetores canabinóides, uma vez que são capazes de diminuir o stress oxidativo (Figura 5.2) (179).

5.4.3.2 Fitocannabinóides na ELA

Medicamentos à base de fitocannabinóides podem ser uma futura forma terapêutica para retardar ou interromper a degeneração dos neurónios na ELA. Investigações apoiam a ação destes compostos na correção da toxicidade induzida pelo glutamato, redução do stress oxidativo e atenuação da reatividade glial, bem como processos inflamatórios. É dada especial importância a canabinóides que atuam ao nível dos recetores CB1, PPAR γ mas principalmente CB2 devido ao facto de serem regulados positivamente em células gliais de pacientes com ELA e em modelos experimentais (179).

5.4.3.2.1 Estudos pré-clínicos

Os primeiros estudos desenvolvidos em ratos transgênicos observaram que a administração de Δ^9 -THC em doses mais elevadas atrasava o início do comprometimento motor, tendo adicionalmente um efeito positivo na sua sobrevivência. Quanto aos

mecanismos envolvidos nestes efeitos, foi proposta a redução do stress oxidativo e danos excitotóxicos. O fitocanabinóide, ao exercer uma ação agonista parcial nos recetores CB1 e CB2, que desempenham um papel importante na regulação retrógrada da função sináptica, vai simular os efeitos dos endocanabinóides, modulando os efeitos dos neurotransmissores como do glutamato, diminuindo os seus efeitos excitatórios (184).

Os estudos pré-clínicos indicam que para além dos canabinóides exercerem efeitos neuroprotetores na ELA ativando os recetores CB1 e CB2, também ativam mecanismos antioxidantes independentes dos recetores canabinóides (185).

Em relação à ativação dos recetores CB2 utilizando um agonista seletivo de CB2 (HU-308) em modelos de animais transgénicos, foram identificadas melhorias no seu comportamento motor, preservação dos neurónios motores espinais e ainda atenuação da reatividade dos astrócitos e da microglia. Os mesmos resultados foram obtidos utilizando um agonista não seletivo do recetor CB2 (WIN55,212-2) levando à conclusão que deverá existir uma contribuição dos recetores CB1 nestes resultados, uma vez que o tratamento simultâneo com um antagonista dos recetores CB1 (rimonabanto) atenuou os efeitos benéficos anteriormente verificados (185).

Vários canabinóides, como Δ^9 -THC e CBD, têm capacidade de ativar o PPAR γ para além dos recetores canabinóides. De forma a avaliar se parte da sua eficácia possa estar relacionada à ativação destes recetores, foi utilizado um derivado hidroxiquinona do CBG (VCE-003.2), que tem capacidade de ativar o PPAR γ (98), tal como o CBG, sem ativar os recetores CB1 e CB2. Este demonstrou preservar os neurónios motores espinais, reduziu a reatividade glial e melhorou danos neurológicos. Desta forma, os compostos derivados do cânhamo demonstram apresentar potencial terapêutico sem interagir com os recetores canabinóides (186).

5.4.3.2.2 Estudos clínicos

Doentes diagnosticados com ELA foram envolvidos num estudo relativamente recente com o objetivo de melhorar a espasticidade, definida como “um aumento da atividade muscular, de forma involuntária, que prejudica o funcionamento de músculos e articulações”, um dos sintomas característicos desta doença (177). Uma vez que o *spray*

bucal Δ^9 -THC: CBD é aprovado para tratamento deste sintoma na esclerose múltipla, serve como opção complementar de tratamento *off-label* na espasticidade relacionada à ELA. Esta associação é usada numa ampla faixa de dosagens, variando com as necessidades individuais dos pacientes. Os resultados sugerem que a associação Δ^9 -THC: CBD pode ser uma adição valiosa no tratamento destes sintomas, para além do bom perfil de segurança e tolerabilidade que foi verificado (187).

Embora existam poucos estudos clínicos que investiguem o potencial dos canabinóides como terapia modificadora desta doença, essa abordagem é amplamente apoiada por uma vasta gama de estudos pré-clínicos (179).

6 Canábis medicinal em Portugal

Recentemente, Portugal foi um dos países que alterou a legislação sobre a utilização de canábis para fins medicinais face ao crescente interesse na planta que surgiu nos últimos anos, mas também como reflexo de recentes investigações que revelam e suportam a existência de um potencial terapêutico significativo. É importante que seja estabelecido um quadro legal de forma que os medicamentos, substâncias e preparações à base da planta *C. sativa* sejam acessíveis para tratamento, mas simultaneamente de uma forma segura, com qualidade e cumprindo todos os requisitos necessários com o objetivo de proteger a saúde pública. Além disso, é importante prevenir o uso indevido dos mesmos de acordo com a Convenção das Nações Unidas contra o tráfico ilícito de estupefacientes e psicotrópicos (188).

Atualmente, de acordo com a lei n.º 33/2018 de 18 de julho e respetiva regulamentação pelo Decreto-Lei n.º 8/2019 de 15 de janeiro, é estabelecido o quadro legal para a utilização de medicamentos, preparações e substâncias à base da planta para fins medicinais, nomeadamente a sua prescrição e dispensa em farmácia (189). Os médicos podem prescrever estes medicamentos, sendo que a dispensa dos mesmos segue as regras que são aplicadas a estupefacientes e psicotrópicos. O farmacêutico tem um papel fundamental, deverá disponibilizar ao doente as instruções para a correta utilização atendendo que existe pouca experiência na utilização deste tipo de produtos (188).

O INFARMED, I.P. é responsável por emitir uma autorização de introdução no mercado (AIM) e conceder uma ACM a medicamentos, preparações ou substâncias à base da planta canábica destinadas a uso humano e fins medicinais (189). É definida através de Deliberação do Conselho diretivo (Deliberação N.º 11/CD/2019) a lista de indicações terapêuticas consideradas apropriadas para as preparações ou substâncias à base da planta, sendo elas: (19,190).

- a) Espasticidade associada à esclerose múltipla ou lesões da espinal medula;
- b) Náuseas, vômitos (resultante da quimioterapia, radioterapia e terapia combinada de HIV e medicação para hepatite C);
- c) Estimulação do apetite nos cuidados paliativos de doentes sujeitos a tratamentos oncológicos ou com SIDA;
- d) 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);
- e) Síndrome de Gilles de la Tourette;
- f) Epilepsia e tratamento de transtornos convulsivos graves na infância, tais como as síndromes de Dravet e Lennox-Gastaut;
- g) Glaucoma resistente à terapêutica.

Entre estas condições, destaca-se: a síndrome de Gilles de la Tourette, um transtorno crónico do neurodesenvolvimento que se manifesta por tiques motores e vocais. Os tiques podem ser simples (envolvendo um único grupo muscular ou sons isolados) ou complexos (envolvendo múltiplos grupos musculares ou frases). É frequentemente acompanhada de comorbidades como transtorno obsessivo-compulsivo e deficit de atenção. Fatores genéticos e neurofisiológicos estão envolvidos e avanços recentes incluem o uso de neuromodulação para entender melhor a fisiologia da síndrome (191); e a síndrome de Dravet, que representa um exemplo clássico de uma encefalopatia epilética e do desenvolvimento, caracterizada por síndromes epiléticas graves na infância e com comprometimento do neurodesenvolvimento. Está associada à mortalidade prematura, em particular, devido ao aumento de crises convulsivas prolongadas. Os distúrbios do neurodesenvolvimento estão presentes na grande maioria dos pacientes, incluindo comprometimento da fala, distúrbios do sono, deficits motores, alterações da

marcha e comprometimentos no comportamento psicológico, como sintomas de transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), falta de atenção ou TEA (192).

Ambas são condições em que a utilização dos compostos ativos de *C. sativa* tem revelado resultados promissores, embora a lista deva ser revista periodicamente em função da evolução do conhecimento técnico e científico (190).

Uma vez que a monitorização da segurança das utilizações é considerada crítica, também se encontra sob alçada do INFARMED, I.P., responsável por avaliar de forma contextualizada as notificações de reações de adversas (resposta nociva e não intencional) potencialmente associadas ao uso destes medicamentos (19). De acordo com o nº1 do artigo 17.º do referido Decreto-lei, a prescrição de medicamentos, preparações e substâncias à base de plantas para fins medicinais é admitida nos casos em que se determine que os tratamentos convencionais com medicamentos autorizados não estão a ter o efeito esperado ou caso provoquem efeitos adversos relevantes nas indicações terapêuticas consideradas (19,190).

Atualmente a portaria nº 83/2021, de 15 de Abril define os requisitos e procedimentos necessários à concessão de autorizações para o exercício de atividades, nomeadamente o cultivo, fabrico, comércio por grosso, transporte, circulação, importação e exportação de medicamentos, preparações e substâncias à base da planta da canábis (131).

6.1 Autorização e Comercialização em Portugal

Entende-se por “medicamentos, preparações e substâncias à base da planta da canábis”, as folhas e sumidades floridas ou frutificadas da planta, óleo e outros extratos padronizados ou preparados extraídos ou conseguidos a partir da planta da canábis (189). Distingue-se “preparação à base da planta da canábis” por ser obtida de substâncias derivadas da planta submetendo-as a tratamentos como extração, destilação, expressão, fracionamento, purificação, concentração ou fermentação, de “substância à base da planta da canábis” que se refere apenas à planta, ou parte dela, inteira, fragmentada ou cortada, ou ao exsudado, mas que não foi sujeita a tratamento específico (19).

Os efeitos indesejáveis que podem ser causados pela planta são determinados pela composição específica da mesma. A canábis medicinal, aprovada pelo INFARMED, I.P. obedece a rígidos requisitos de qualidade com o objetivo de garantir que esta apresenta uma composição consistente. O seu fabrico segue elevados padrões de qualidade e encontra-se de acordo com as Boas Práticas de Fabrico, garantindo a consistência entre lotes e o controlo de qualidade (193). Até ao mês de março de 2024 havia no mercado um único medicamento à base de canábis aprovado e comercializado, Sativex®, e uma substância, Tilray Flor Seca THC 18®. No entanto, nesse mesmo mês, foram aprovados mais três pedidos de ACM de preparações e substâncias à base de canábis para fins medicinais, são eles: Satalliv®; Tilray Solução Oral THC 5 CBD 20® e Hexacan - Hexa 01 Alto THC 20%®, (18,194).

Sativex® é uma solução para pulverização bucal de de *nabiximols*, cada ml contém 38-44 mg e 35-42 mg de dois extratos de *Cannabis sativa* L que se encontram sob a forma de extratos moles, *folium cum flore* (folha e flor de canábis) correspondentes a 27 mg de Δ^9 -THC e 25 mg de CBD. É indicado como tratamento na melhoria dos sintomas em doentes adultos com espasticidade causada pela doença esclerose múltipla (EM) (195). Para além do Sativex®, o medicamento Epidiolex® foi aprovado pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA, do inglês *European Medicines Agency*) como medicamento órfão em 2019 (194). Consiste numa solução oral de extrato padronizado com 100 mg/ml de CBD, indicado como terapêutica adjuvante em associação com o clobazam para o alívio de crises convulsivas em doentes a partir dos 2 anos de idade com síndrome de Dravet ou Lennox-Gastaut. Apesar de serem indicações terapêuticas incluídas na lista elaborada pelo INFARMED, I.P. consideradas apropriadas para as substâncias e preparações à base da planta canábis, este medicamento não é comercializado em Portugal (196).

Tilray Flor Seca THC 18®, é uma substância à base da planta autorizada e comercializada em Portugal. Consiste na flor seca da planta feminina de canábis e é destinada a inalação por vaporização. Contém 18% de Δ^9 -THC e <1% de CBD, sendo que as indicações terapêuticas são baseadas no teor de fitocannabinóides, as inflorescências com teor elevado de Δ^9 -THC destinam-se ao alívio de náuseas e vômitos, estimulação do apetite em cuidados paliativos e alívio sintomático do glaucoma, enquanto com teor elevado ou equilibrado de Δ^9 -THC e CBD se destinam ao alívio da dor crónica, síndrome de Gilles de la Tourette e espasticidade (197).

A preparação Tilray Solução Oral THC 5 CBD 20® é um extrato de largo espectro de *Cannabis sativa* L. para administração oral aprovada pelo INFARMED, I.P. em março de 2024. (193). A outra preparação, aprovada também em Portugal, Satalliv®, é igualmente uma solução oral obtida da flor da planta e cada mililitro de solução contém 10 mg de CBD. Tendo em conta a lista de indicações terapêuticas aprovadas pelo INFARMED, I.P. (190) as inflorescências com teor elevado de CBD face a Δ^9 -THC destinam-se a tratamento de epilepsia e distúrbios convulsivos graves na infância (198).

Por último, Hexacan - Hexa 01 Alto THC 20%®, outra substância de origem vegetal para inalação por vaporização, foi autorizada em março de 2024 apesar de ainda não ser comercializada em Portugal. É um produto com origem nas inflorescências secas da planta e contém um elevado teor de Δ^9 -THC (199).

7 Conclusão

Cannabis sativa L. é uma espécie amplamente estudada do ponto de vista químico, no entanto, a sua complexidade botânica é notável. A intervenção humana ao longo do tempo tem contribuído para a sua diversidade morfológica e química. A resina produzida pelas suas glândulas vegetais contém mais de 500 compostos, entre os quais os fitocanabinóides, cujos efeitos biológicos ainda não são bem conhecidos, tal como os seus mecanismos moleculares, celulares e comportamentais envolvidos na interação com o ECS (3).

As doenças neurodegenerativas, como DP, DA ou ELA, são caracterizadas pela degeneração progressiva de células nervosas, causando défices motores e cognitivos. A complexidade dos mecanismos patológicos nestas condições exige abordagens terapêuticas multifatoriais, e os canabinóides podem vir a integrar um papel importante nestes tratamentos. No estudo da canábis medicinal como terapia para doenças do sistema nervoso, os principais destaques são o Δ^9 -THC e CBD. A pesquisa pré-clínica e clínica tem reforçado os seus diferentes efeitos, entre eles, neuroinflamatórios, neuroprotetores, antiapóptóticos ou anti-excitotóxicos, que revelam um potencial neuroprotetor, principalmente através da modulação dos recetores CB1 e CB2 (3). No entanto, apesar dos benefícios terapêuticos, os seus efeitos psicoativos e elevado potencial de

dependência têm limitado a progressão de investigações, sendo que a extrapolação dos resultados de estudos pré-clínicos para uso clínico ainda apresenta muitos obstáculos. O reconhecimento do potencial terapêutico da canábida nas doenças neurodegenerativas deve ser acompanhado de mais investigações científicas, como a realização de ensaios clínicos controlados que possam fornecer dados concretos sobre a sua eficácia, segurança e impacto na saúde a longo prazo. Apesar da utilização industrial e medicinal da planta, os dados controversos e as barreiras sociais e regulamentares, são outros fatores que impactam negativamente a investigação da canábida para fins medicinais (200).

A utilização de derivados da planta em pacientes com DP ainda não é recomendada, alguns estudos tentam demonstrar que o uso de canabinóides pode resultar na redução dos tremores, ansiedade e dor, simultaneamente com uma melhoria da qualidade do sono. Em relação à DA, os resultados de estudos *in vivo* sobre os efeitos terapêuticos dos canabinóides em pacientes com a patologia são igualmente escassos. No entanto, a administração de uma associação de Δ^9 -THC e de CBD tem mostrado potencial para ajudar a preservar a memória, enquanto uma administração de Δ^9 -THC em doses muito baixas é associada a uma prevenção de respostas inflamatórias. O stress oxidativo e a inflamação cerebral são mecanismos fundamentais no desenvolvimento da doença, e os resultados mencionados podem ser atribuídos às propriedades antioxidantes dos canabinóides (47). Na ELA, a investigação sobre os canabinóides incide no seu potencial neuroprotetor, principalmente pela redução do stress oxidativo e neuroinflamação, embora seja necessário aprofundar e comprovar a sua eficácia terapêutica (179).

A realização da presente dissertação permitiu constatar a enorme complexidade intrínseca da *Cannabis sativa*. A planta apresenta novas e promissoras abordagens terapêuticas para o tratamento de diversas patologias, incluindo as doenças neurodegenerativas previamente discutidas. O crescente reconhecimento científico e a aprovação de produtos medicinais à base de canábida observada no mercado português, abrem portas para tratamentos inovadores que podem melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Contudo, é fundamental que estudos clínicos rigorosos continuem a validar a eficácia e segurança dos tratamentos, garantido uma base sólida para a sua adoção.

8 Perspetivas Futuras

O ECS desempenha papéis críticos em inúmeras condições fisiológicas e doenças humanas, originou o desenvolvimento considerável de ligandos para os recetores CB1 e CB2, resultando em centenas de fitocannabinóides e canabinóides sintéticos que mostram afinidade para tratamento de várias doenças (51).

Novos estudos estão constantemente a ser realizados, sendo a quantidade e a qualidade das evidências científicas relativas aos benefícios da utilização de canabinóides com finalidade terapêutica cada vez maior. A contínua evolução da área estabelece a expectativa que o número de ACM de medicamentos, substâncias e preparações à base da espécie *Cannabis sativa* venha a aumentar, acompanhada do aumento do fabrico e armazenamento de produtos derivados da mesma.

A canábis é extremamente complexa, desde a sua morfologia aos fitocannabinóides, a sua composição engloba centenas de outros constituintes. Nos fitocannabinóides, além do Δ^9 -THC e do CBD, existem outros menos estudados, como o CBG ou CBC que apresentam potenciais efeitos terapêuticos em doenças neurodegenerativas e por essa razão deverão vir a ser cada vez mais alvo de investigação. O desenvolvimento de novos medicamentos baseados em fitocannabinóides não psicoativos pode ser uma janela de novas possibilidades de tratamento. Recentemente, a pesquisa progrediu significativamente na direção de modular o efeito do recetor CB1, nomeadamente através de moduladores alostéricos (utilizados para modificar os efeitos agonista e antagonista do recetor, minimizando efeitos adversos), por meio de heteromerização com outros GPCRs ou através de elementos do ECS, de forma a obter novos mecanismos de aplicação no desenvolvimento de novos medicamentos. O recetor CB2, apesar de ignorado durante muitos anos, tem demonstrado cada vez mais interesse devido aos seus efeitos benéficos em várias patologias, principalmente neurológicas. Foi identificada a sua presença no SNC e estudos recentes relatam o seu papel ao nível da regulação da atividade neuronal, o que revela um potencial terapêutico interessante (54). Além destes futuros avanços científicos, a descoberta de novos canabinóides por meio do estudo da biodiversidade de espécies é ainda um território pouco explorado, por isso é esperado que estes novos compostos promissores de diferentes fontes e espécies naturais possam constituir protótipos de fármacos (51).

A compreensão dos efeitos dos canabinóides é muitas vezes dificultada pela sua capacidade de agir em diferentes alvos. Embora a sua complexidade seja vista muitas vezes como uma desvantagem, a capacidade de um único agente terapêutico interagir com diferentes vias e recetores relacionados com uma só doença é algo muito promissor na área da pesquisa biomédica. Novas estratégias inovadoras de formulações, como *sprays* intranasais e adesivos transdérmicos, mostram resultados prometedores para efeitos sistémicos rápidos e prolongados. Existem abordagens em constante desenvolvimento e que apresentam oportunidades promissoras para o uso clínico da canábida, entre elas, a aplicação de terpenos derivados da planta como promotores de penetração com o objetivo de aumentar a eficácia de outros componentes terapêuticos e na área da nanotecnologia com o desenvolvimento de novas formas de administração (45).

Ao longo do que foi descrito neste trabalho, são muitos os benefícios terapêuticos que *C. sativa* apresenta em diversas patologias, onde estão incluídas as doenças neurodegenerativas. Há um otimismo crescente em torno da aplicação da planta em patologias como a DA, DP ou ELA, principalmente devido às suas propriedades neuroprotetoras e anti-inflamatórias (200). No entanto, apesar de todos os avanços na ciência é essencial analisar discrepâncias na literatura sobre a utilização da canábida. Estas destacam a complexidade do tema e ressaltam a necessidade de novas pesquisas para compreender de forma clara e abrangente os seus benefícios e riscos (201).

As regulamentações e o acesso à canábida continuam a ser um outro desafio significativo, uma vez que existe uma falta de consistência e uniformidade das mesmas, o que dificulta o acesso dos pacientes a tratamentos eficazes e padronizados, colocando em causa os cuidados de saúde. Desta forma, políticas e pesquisas futuras devem concentrar-se em abordar estas questões, bem como efetuar novas avaliações da utilização da planta para fins medicinais a longo prazo, a elucidação de mecanismos de ação, interações com outros medicamentos e educação dos profissionais de saúde, uma vez que a falta de conhecimento pode limitar a utilização de canábida como parte integrante da prática clínica (201).

9 Referências bibliográficas

1. Hussain T, Jeena G, Pitakbut T, Vasilev N, Kayser O. *Cannabis sativa* research trends, challenges, and new-age perspectives. *iScience*. 2021; 24(12):103391. doi: 10.1016/j.isci.2021.103391.
2. Solymosi K, Köfalvi A. *Cannabis*: A Treasure Trove or Pandora's Box? *Mini-Rev Med Chem*. 2017; 17(13):1233-91. doi: 10.2174/1389557516666161004162133.
3. Sampaio MFS, Paiva YB, Sampaio TB, Pereira MG, Coimbra NC. Therapeutic applicability of cannabidiol and other phytocannabinoids in epilepsy, multiple sclerosis and Parkinson's disease and in comorbidity with psychiatric disorders. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2024; 134(5):574–601. doi: 10.1111/bcpt.13997.
4. Legare CA, Raup-Konsavage WM, Vrana KE. Therapeutic potential of *Cannabis*, cannabidiol, and cannabinoid-based pharmaceuticals. *Pharmacology*. 2022, 107:131–49. doi: 10.1159/000521683.
5. Schurman LD, Lu D, Kendall DA, Howlett AC, Lichtman AH. Molecular mechanism and cannabinoid pharmacology. In: *Handbook of Experimental Pharmacology*. Springer; 2020. p. 323–53. doi: 10.1007/164_2019_298.
6. Hunt DA, Keefe J, Whitehead T, Littlefield A. Understanding Cannabis. *J Nurse Pract*. 2020; 16(9):645–9. doi: 10.1016/j.nurpra.2020.07.007.
7. Pacher P, Kogan NM, Mechoulam R. Beyond THC and endocannabinoids. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*. 2019; 60:637–59. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010818-021441.
8. Dallabrida KG, Oliveira Bender JM, Chade ES, Rodrigues N, Sampaio TB. Endocannabinoid system changes throughout life: Implications and therapeutic potential for autism, ADHD, and Alzheimer's disease. *Brain Sci*. 2024; 14(6):592. doi: 10.3390/brainsci14060592.
9. Bonini SA, Premoli M, Tambaro S, Kumar A, Maccarinelli G, Memo M, et al. *Cannabis sativa*: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *J Ethnopharmacol*. 2018; 227:300–15. doi: 10.1016/j.jep.2018.09.004.
10. Pisanti S, Bifulco M. Medical Cannabis: A plurimillennial history of an evergreen. *J Cell Physiol*. 2019; 234 (6):8342–51. doi: 10.1002/jcp.27725.
11. Hanuš LO. Pharmacological and therapeutic secrets of plant and brain (endo)cannabinoids. *Med Res Rev*. 2009; 29(2):213–71. doi: 10.1002/med.20135.
12. Crocq MA. History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues Clin Neurosci*. 2020; 22(3):223–8. doi: 10.31887/DCNS.2020.22.3/mcrocq.

13. MacGillivray N. Sir William Brooke O'Shaughnessy (1808–1889), MD, FRS, LRCS Ed: Chemical pathologist, pharmacologist and pioneer in electric telegraphy. *J Med Biogr.* 2017;25(3):186–96. doi: 10.1177/0967772015596276.
14. Chopra IC, Chopra RN. Bulletin on Narcotics. 1957. p. 4–29 The Use of the Cannabis Drugs in India. Disponível em: https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/bulletin/bulletin_1957-01-01_1_page003.html. Acesso em Junho de 2024.
15. Reynolds JR. Therapeutical uses and toxic effects of *Cannabis indica*. *The Lancet.* 1890; 637–8. doi:10.1016/s0140-6736(02)18723-x.
16. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA). *Cannabis laws in Europe: questions and answers for policymaking* [Internet]. European Union Drugs Agency. Luxembourg; 2023. Disponível em: www.emcdda.europa.eu. Acesso em Junho de 2024.
17. SICAD. A História da *Cannabis* [Internet]. 2018. Disponível em: <https://www.sicad.pt/PT/Cidadao/Tu-alinhas/ComportamentosAditivos/Paginas/detalhe.aspx?itemId=9&lista=HistoriaLegislacao&bkUrl=/BK/Cidadao/Tu-alinhas/ComportamentosAditivos>. Acesso em Junho de 2024.
18. INFARMED I.P. - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. Canábis Medicinal - Evolução da Atividade. Portugal; 2024 Mar. p. 1-6. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/2893227/Can%C3%A1bis+Medicinal+-+Evolu%C3%A7%C3%A3o+da+atividade/96f794da-9c71-3928-1c73-b4224d74b58c>. Acesso em Maio de 2024.
19. Presidência do Conselho de Ministros. Decreto-Lei nº 8/2019, 15 de Janeiro. Diário da República, 1.ª série 1, N.o. 10; de 15 de janeiro de 2019; Lisboa. p. 184-91. Disponível em: <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/decreto-lei/8-2019-117821810>. Acesso em Junho de 2024.
20. Simiyu DC, Jang JH, Lee OR. Understanding Cannabis sativa L.: Current Status of Propagation, Use, Legalization, and Haploid-Inducer-Mediated Genetic Engineering. *Plants.* 2022; 11(9). doi: 10.3390/plants11091236.
21. Clarke RC, Watson DP. *Cannabis and Natural Cannabis Medicines*. In: ElSohly, M.A. (eds) Marijuana and the Cannabinoids. Forensic Science and Medicine. Humana Press. 2007. p.1-15. Doi: https://doi.org/10.1007/978-1-59259-947-9_1.
22. Robert C. Clarke, & Mark D. Merlin. Natural Origins and Early Evolution of Cannabis. In: University of California Press, editor. Cannabis: Evolution and Ethnobotany. London, England; 2013. p. 13–28.
23. Sommano SR, Chittasupho C, Ruksiriwanich W, Jantrawut P. The Cannabis Terpenes. *Molecules.* 2020; 25(24):5792. doi: 10.3390/molecules25245792.

- 24.** 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; 11:573299. doi: 10.3389/fpls.2020.573299.
- 25.** Backer R, Mandolino G, Wilkins O, ElSohly MA, Smith DL. Editorial: Cannabis Genomics, Breeding and Production. *Front Plant Sci.* 2020; 11:591445. doi: 10.3389/fpls.2020.591445.
- 26.** Adhikary D, Kulkarni M, El-Mezawy A, Mobini S, Elhiti M, Gjuric R, et al. Medical Cannabis and Industrial Hemp Tissue Culture: Present Status and Future Potential. *Front Plant Sci.* 2021; 12:627240. doi: 10.3389/fpls.2021.627240.
- 27.** Das PC, Vista AR, Tabil LG, Baik OD. Postharvest Operations of Cannabis and Their Effect on Cannabinoid Content: A Review. *Bioengineering (Basel).* 2022; 9(8): 364. doi: 10.3390/bioengineering9080364.
- 28.** Schultes RE, Klein WM, Plowman T, Lockwood TE. Cannabis: An Example of Taxonomic Neglect. *Bot Mus Leaf Harv Univ.* 1974; 23(9): 337–67. doi: <https://doi.org/10.5962/p.168565>.
- 29.** Liktör-Busa E, Keresztes A, Lavigne J, Streicher JM, Largent-Milnes TM. Analgesic Potential of Terpenes Derived from Cannabis sativa. *Pharmacol Rev.* 2021; 73(4): 1270–97. doi: 10.1124/pharmrev.120.000046.
- 30.** Amin MR, Ali DW. Pharmacology of Medical Cannabis. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology.* Springer New York LLC; 2019. p. 151–65. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-21737-2_8.
- 31.** Blake A, Nahtigal I. The evolving landscape of cannabis edibles. *Curr Opin Food Sci.* 2019; 28:25–31. doi: 10.1016/j.cofs.2019.03.009.
- 32.** Lazarjani MP, Young O, Kebede L, Seyfoddin A. Processing and extraction methods of medicinal cannabis: a narrative review. *Journal of Cannabis Research.* 2021; 3(1): 32. doi: 10.1186/s42238-021-00087-9.
- 33.** Matthew D Hawes, Matthew R Cohen. Method of drying Cannabis materials background of the invention. United States Patent and Trademark Office (USPTO); US 2015/0096189 A1, 2015.
- 34.** Addo PW, Desaulniers Brousseau V, Morello V, MacPherson S, Paris M, Lefsrud M. Cannabis chemistry, post-harvest processing methods and secondary metabolite profiling: A review. *Ind Crops Prod.* 2021; 170:12. Doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113743.
- 35.** Jin D, Jin S, Chen J. Cannabis Indoor Growing Conditions, Management Practices, and Post-Harvest Treatment: A Review. *Am J Plant Sci.* 2019; 10(06): 925–46. doi: 10.4236/ajps.2019.106067.
- 36.** Al Ubeed HMS, Bhuyan DJ, Alsherbiny MA, Basu A, Vuong Q V. A Comprehensive Review on the Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Cannabis. *Molecules.* 2022; 27(3):604. doi: 10.3390/molecules27030604.

37. Romano LL, Hazekamp A. Cannabis Oil: chemical evaluation of an upcoming cannabis-based medicine. *Cannabinoids*. 2013; 7(1): 1-11.
38. Rovetto LJ, Aieta N V. Supercritical carbon dioxide extraction of cannabinoids from *Cannabis sativa* L. *Journal of Supercritical Fluids*. 2017; 129:16–27. doi: 10.1016/j.supflu.2017.03.014.
39. Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J Food Eng*. 2013; 117(4): 426–36. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014.
40. Qamar S, Torres YJM, Parekh HS, Robert Falconer J. Extraction of medicinal cannabinoids through supercritical carbon dioxide technologies: A review. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2021; 1167:12258. doi: 10.1016/j.jchromb.2021.122581. doi: 10.1016/j.jchromb.2021.122581.
41. Xie Z, Mi Y, Kong L, Gao M, Chen S, Chen W, et al. *Cannabis sativa*: origin and history, glandular trichome development, and cannabinoid biosynthesis. *Hortic Res*. 2023;10(9): uhad150. doi: 10.1093/hr/uhad150.
42. Lim KJH, Lim YP, Hartono YD, Go MK, Fan H, Yew WS. Biosynthesis of nature-inspired unnatural cannabinoids. *Molecules*. 2021;26(10):2914. doi: 10.3390/molecules26102914.
43. Walsh KB, McKinney AE, Holmes AE. Minor Cannabinoids: Biosynthesis, Molecular Pharmacology and Potential Therapeutic Uses. *Front Pharmacol*. 2021;12: 777804. doi: 10.3389/fphar.2021.777804.
44. Wiley JL, Owens RA, Lichtman AH. Discriminative stimulus properties of phytocannabinoids, endocannabinoids, and synthetic cannabinoids. In: Porter JH, Prus AJ, eds. *The behavioral neuroscience of drug discrimination*. Current Topics in Behavioral Neurosciences, vol 39. Cham: Springer; 2016. p. 153-73. doi: 10.1007/7854_2016_24.
45. Voicu V, Brehar FM, Toader C, Covache-Busuioc RA, Corlatescu AD, Bordeianu A, et al. Cannabinoids in Medicine: A Multifaceted Exploration of Types, Therapeutic Applications, and Emerging Opportunities in Neurodegenerative Diseases and Cancer Therapy. *Biomolecules*. 2023;13(9): :1388. doi: 10.3390/biom13091388.
46. Lu HC, Mackie K. Review of the Endocannabinoid System. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging*. 2021;6(6):607–15. doi: 10.1016/j.bpsc.2020.07.016.
47. Gabarin A, Yarmolinsky L, Budovsky A, Khalfin B, Ben-Shabat S. Cannabis as a Source of Approved Drugs: A New Look at an Old Problem. *Molecules*. 2023;28(23). doi: 10.3390/molecules28237686.
48. Śmiarowska M, Białecka M, Machoy-Mokrzyńska A. *Cannabis* and cannabinoids: pharmacology and therapeutic potential. *Neurol Neurochir Pol*. 2022;56(1):4–13. doi: 10.5603/PJNNS.a2022.0015.

49. Lu HC, MacKie K. An introduction to the endogenous cannabinoid system. *Biol Psychiatry*. 2016;79(7):516–25. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.07.028.
50. Osafo N, Yeboah OK, Antwi AO. Endocannabinoid system and its modulation of brain, gut, joint and skin inflammation. *Mol Biol Rep*. 2021;48(4):3665–80. doi: 10.1007/s11033-021-06366-1.
51. Rezende B, Alencar AKN, de Bem GF, Fontes-Dantas FL, Montes GC. Endocannabinoid System: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Pharmaceuticals*. 2023;16(2):148. doi: 10.3390/ph16020148.
52. 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. doi: 10.1016/j.chembiol.2007.05.014.
53. Xie X, Li Y, Xu S, Zhou P, Yang L, Xu Y, et al. Genetic Blockade of NAAA Cell-specifically Regulates Fatty Acid Ethanolamides (FAEs) Metabolism and Inflammatory Responses. *Front Pharmacol*. 2022;12: 817603. doi: 10.3389/fphar.2021.817603.
54. Zou S, Kumar U. Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: Signaling and function in the central nervous system. *Int J Mol Sci*. 2018;19(3): 7686. doi: 10.3390/ijms19030833.
55. Kind L, Kursula P. Structural properties and role of the endocannabinoid lipases ABHD6 and ABHD12 in lipid signalling and disease. *Amino Acids*. 2019;51(2):151–174. doi: 10.1007/s00726-018-2682-8.
56. Levinsohn EA, Hill KP. Clinical uses of cannabis and cannabinoids in the United States. *J Neurol Sci*. 2020; 411:116717. doi: 10.1016/j.jns.2020.116717.
57. O'Reilly E, Khalifa K, Cosgrave J, Azam H, Prencipe M, Simpson JC, et al. Cannabidiol Inhibits the Proliferation and Invasiveness of Prostate Cancer Cells. *J Nat Prod*. 2023;86(9):2151–61. doi: 10.1021/acs.jnatprod.3c00363.
58. Bhattacharyya S, Morrison PD, Fusar-Poli P, Martin-Santos R, Borgwardt S, Winton-Brown T, et al. Opposite effects of delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on human brain function and psychopathology. *Neuropsychopharmacology*. 2010;35(3):764–74. doi: 10.1038/npp.2009.184.
59. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA); Institute of Forensic Medicine. Synthetic cannabinoids in Europe—a review. Germany: EMCDDA; 2021. p. 1-126. doi: 10.2810/911833.
60. Grim TW, Morales AJ, Gonek MM, Wiley JL, Thomas BF, Endres GW, et al. Stratification of cannabinoid 1 receptor (CB1R) agonist efficacy: Manipulation of cb1r density through use of transgenic mice reveals congruence between in vivo and in vitro assays. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2016;359(2):329–39. doi: 10.1124/jpet.116.233163.

61. Sera L, Hempel-Sanderoff C. Cannabis Science and Therapeutics: An Overview for Clinicians. *J Clin Pharmacol*. 2024;64(5):499–513. doi: 10.1002/jcph.2400.
62. Al-Khazaleh AK, Zhou X, Bhuyan DJ, Münch GW, Al-Dalabeeh EA, Jaye K, et al. The Neurotherapeutic Arsenal in Cannabis sativa: Insights into Anti-Neuroinflammatory and Neuroprotective Activity and Potential Entourage Effects. *Molecules*. 2024;29(2):410. doi: 10.3390/molecules29020410.
63. Chen C, Pan Z. Cannabidiol and terpenes from hemp – ingredients for future foods and processing technologies. *Journal of Future Foods*. 2021;1(2):113–27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.01.001>.
64. Baron EP. Medicinal Properties of Cannabinoids, Terpenes, and Flavonoids in Cannabis, and Benefits in Migraine, Headache, and Pain: An Update on Current Evidence and Cannabis Science. *Headache*. 2018;58(7):1139–1186. doi: 10.1111/head.13345.
65. Koltai H, Namdar D. *Cannabis* Phytomolecule “Entourage”: From Domestication to Medical Use. *Trends Plant Sci*. 2020;25(10):976–984. doi: 10.1016/j.tplants.2020.04.007.
66. Long LE, Lind J, Webster M, Weickert CS. Developmental trajectory of the endocannabinoid system in human dorsolateral prefrontal cortex. *BMC Neurosci*. 2012;13(1):87. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2202-13-87>.
67. Abuhasira R, Schleider LBL, Mechoulam R, Novack V. Epidemiological characteristics, safety and efficacy of medical cannabis in the elderly. *Eur J Intern Med*. 2018 Mar 1;49:44–50. doi: 10.1016/j.ejim.2018.01.019.
68. Fernández-Moncada I, Rodrigues RS, Fundazuri UB, Bellocchio L, Marsicano G. Type-1 cannabinoid receptors and their ever-expanding roles in brain energy processes. *J Neurochem*. 2024;168(5):693–703. doi: 10.1111/jnc.15922.
70. Guerrero-Alba R, Barragán-Iglesias P, González-Hernández A, Valdez-Morales EE, Granados-Soto V, Condés-Lara M, et al. Some prospective alternatives for treating pain: The endocannabinoid system and its putative receptors GPR18 and GPR55. *Front Pharmacol*. 2019;9:1496. doi: 10.3389/fphar.2018.01496.
71. Medina-Vera D, Rosell-Valle C, López-Gambero AJ, Navarro JA, Zambrana-Infantes EN, Rivera P, et al. Imbalance of endocannabinoid/lysophosphatidylinositol receptors marks the severity of alzheimer’s disease in a preclinical model: A therapeutic opportunity. *Biology (Basel)*. 2020;9(11):337. doi: 10.3390/biology9110377.
72. Francisco Barão Cordeiro. Revisão sobre a utilização de Cannabis sativa L. na doença de Parkinson. [Lisboa]: Instituto Universitário Egas Moniz; 2023. Disponível em: https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/49318/1/Cordeiro_Francisco_Barão.pdf. Acesso em abril de 2024.
73. Marzo V Di, Petrosino S. Endocannabinoids and the regulation of their levels in health and disease. *Curr Opin Lipidol*. 2007;18(2):129–40. doi: 10.1097/MOL.0b013e32803dbdec.

74. Lucas CJ, Galettis P, Schneider J. The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. *Br J Clin Pharmacol*. 2018;84(11):2477–2482. doi: 10.1111/bcp.13710.
75. Andreas Austgulen Westin. Cannabis og urinprøver [Cannabis and urine samples]. *Tidsskr Nor Legeforen*. 2011;131(6):577–80. doi: 10.4045/tidsskr.09.1111.
76. Grotenhermen F. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Cannabinoids. *Clinical Pharmacokinetics*. 2003; 42(4):327–60. doi: 10.2165/00003088-200342040-00003.
77. Chayasirisobhon S. Mechanisms of Action and Pharmacokinetics of Cannabis. *Permanente Journal*. 2021;25(1):1-3. doi: 10.7812/TPP/19.200.
78. Martin JH, Schneider J, Lucas CJ, Galettis P. Exogenous Cannabinoid Efficacy: Merely a Pharmacokinetic Interaction? *Clin Pharmacokinet*. 2018;57(5):539–45. doi: 10.1007/s40262-017-0599-0.
79. Stinchcomb AL, Valiveti S, Hammell DC, Ramsey DR. Human skin permeation of Δ 8-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and cannabinol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2004;56(3):291–97. doi: 10.1211/0022357022791.
80. Gaston TE, Friedman D. Pharmacology of cannabinoids in the treatment of epilepsy. *Epilepsy and Behavior*. 2017;70(PtB):313–318. doi: 10.1016/j.yebeh.2016.11.016.
81. Huestis MA. Human cannabinoid pharmacokinetics. *Chem Biodivers*. 2007;4(8):1770–1804. doi: 10.1002/cbdv.200790152.
82. Huestis MA. Pharmacokinetics and metabolism of the plant cannabinoids, Δ 9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and cannabinol. In: Pertwee RG, editor. *Cannabinoids. Handbook of Experimental Pharmacology*. Vol 168. Berlin, Heidelberg: Springer; 2005. p. 657-90. doi: 10.1007/3-540-26573-2_23.
83. Heuberger JAAC, Guan Z, Oyetayo OO, Klumpers L, Morrison PD, Beumer TL, et al. Population Pharmacokinetic Model of THC Integrates Oral, Intravenous, and Pulmonary Dosing and Characterizes Short- and Long-term Pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*. 2015;54(2):209–19. doi: 10.1007/s40262-014-0195-5.
84. Lucas CJ, Galettis P, Song S, Solowij N, Reuter SE, Schneider J, et al. Cannabinoid Disposition After Human Intraperitoneal Use: An Insight Into Intraperitoneal Pharmacokinetic Properties in Metastatic Cancer. *Clin Ther*. 2018;40(9):1442–47. doi: 10.1016/j.clinthera.2017.12.008.
85. Stefan W, Toennes, Johannes G, Ramaekers, Eef L, Theunissen, Manfred R, Moeller, Gerold F, Kauert. Comparison of Cannabinoid Pharmacokinetic Properties in Occasional and Heavy Users Smoking a Marijuana or Placebo Joint. *J Anal Toxicol*. 2008; 32(7):470–76. doi: 10.1093/jat/32.7.470.

- 86.** Wall ME, Sadler BM, Brine D, Taylor H, Perez-Reyes M. Metabolism, disposition, and kinetics of delta-9-tetrahydrocannabinol in men and women. *Clin Pharmacol Ther.* 1983;34(3):352–63. doi: 10.1038/clpt.1983.179.
- 87.** Lee S, Lee Y, Kim Y, Kim H, Rhyu H, Yoon K, et al. Beneficial effects of cannabidiol from Cannabis. *Appl Biol Chem.* 2024;67(1):32. doi: <https://doi.org/10.1186/s13765-024-00867-w>.
- 88.** Sido JM, Jackson AR, Nagarkatti PS, Nagarkatti M. Marijuana-derived Δ -9-tetrahydrocannabinol suppresses Th1/Th17 cell-mediated delayed-type hypersensitivity through microRNA regulation. *J Mol Med.* 2016;94(9):1039–51. doi: 10.1007/s00109-016-1404-5.
- 89.** 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.* 2004;175(3):360–6. doi: 10.1007/s00213-004-1825-7.
- 90.** Garrett ER, Hunt CA. Physicochemical Properties, Solubility, and Protein Binding of Δ -9-Tetrahydrocannabinol. *J Pharm Sci.* 1974;63(7):1056–64. doi: 10.1002/jps.2600630705.
- 91.** Zuurman L, Roy C, Schoemaker RC, Hazekamp A, Den Hartigh J, Bender JCME, et al. Effect of intrapulmonary tetrahydrocannabinol administration in humans. *Journal of Psychopharmacology.* 2008;22(7):707–16. doi: 10.1177/0269881108089581.
- 92.** Mosaed S, Smith AK, Liu JHK, Minckler DS, Fitzgerald RL, Grelotti D, et al. The Relationship Between Plasma Tetrahydrocannabinol Levels and Intraocular Pressure in Healthy Adult Subjects. *Front Med (Lausanne).* 2022; 8:736792. doi: 10.3389/fmed.2021.736792.
- 93.** Stella N. THC and CBD: Similarities and differences between siblings. *Neuron.* 2023;111(3):302–327. doi: 10.1016/j.neuron.2022.12.022.
- 94.** Katchan V, David P, Shoenfeld Y. Cannabinoids and autoimmune diseases: A systematic review. *Autoimmun Rev.* 2016;15(6):513–28. doi: 10.1016/j.autrev.2016.02.008.
- 95.** Wilkinson ST, Radhakrishnan R, D’Souza DC. Impact of Cannabis Use on the Development of Psychotic Disorders. *Curr Addict Rep.* 2014;1(2):115–128. doi: 10.1007/s40429-014-0018-7.
- 96.** Hanuš LO, Meyer SM, Muñoz E, Tagliabatella-Scafati O, Appendino G. Phytocannabinoids: A unified critical inventory. *Nat Prod Rep.* 2016;33(12):1357–92. doi: 10.1039/c6np00074f.
- 97.** Jastrząb A, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. The Origin and Biomedical Relevance of Cannabigerol. *Int J Mol Sci.* 2022;23(14):7929. doi: 10.3390/ijms23147929.

- 98.** Nachnani R, Raup-Konsavage WM, Vrana KE. The pharmacological case for cannabigerol. *J Pharmacol Exp Ther.* 2021;376(2):204-12. doi: 10.1124/jpet.120.000340.
- 99.** Anokwuru CP, Makolo FL, Sandasi M, Tankeu SY, Elisha IL, Agoni C, et al. Cannabigerol: a bibliometric overview and review of research on an important phytocannabinoid. *Phytochemistry Reviews.* 2022;21(5):1523–47. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09794-w>.
- 100.** Robaina Cabrera CL, Keir-Rudman S, Horniman N, Clarkson N, Page C. The anti-inflammatory effects of cannabidiol and cannabigerol alone, and in combination. *Pulm Pharmacol Ther.* 2021;69: 102047. doi: 10.1016/j.pupt.2021.102047.
- 101.** Gugliandolo A, Pollastro F, Grassi G, Bramanti P, Mazzon E. In vitro model of neuroinflammation: Efficacy of cannabigerol, a non-psychoactive cannabinoid. *Int J Mol Sci.* 2018;19(7):1992. doi: 10.3390/ijms19071992.
- 102.** Andre CM, Hausman JF, Guerriero G. Cannabis sativa: The plant of the thousand and one molecules. *Front Plant Sci.* 2016; 7:19. doi: 10.3389/fpls.2016.00019.
- 103.** DeLong GT, Wolf CE, Poklis A, Lichtman AH. Pharmacological evaluation of the natural constituent of Cannabis sativa, cannabichromene and its modulation by Δ^9 -tetrahydrocannabinol. *Drug Alcohol Depend.* 2010;112(1–2):126–33. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2010.05.019.
- 104.** De Petrocellis L, Ligresti A, Schiano Moriello A, 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 Special issue: Cannabinoids in Biology and Medicine, Part I.):1479–94. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.01166.x.
- 105.** Zagozen M, Cerenak A, Kreft S. Cannabigerol and cannabichromene in Cannabis sativa L. *Acta Pharmaceutica.* 2021;71(3):355–64. doi: 10.2478/acph-2021-0021.
- 106.** Elsohly HN, Turner CE, Clark AM, Elsohly MA. Synthesis and Antimicrobial Activities of Certain Cannabichromene and Cannabigerol Related Compounds. *Journal of Pharmaceutical Science.* 1982;71(12):1319–23. doi: 10.1002/jps.2600711204.
- 107.** Izzo AA, Borrelli F, Capasso R, Di Marzo V, Mechoulam R. Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends Pharmacol Sci.* 2009;30(10):515–27. doi: 10.1016/j.tips.2009.07.006.
- 108.** Calcaterra A, Cianfoni G, Tortora C, Manetto S, Grassi G, Botta B, et al. Natural Cannabichromene (CBC) Shows Distinct Scalemicity Grades and Enantiomeric Dominance in Cannabis sativa Strains. *J Nat Prod.* 2023;86(4):909–14. doi: 10.1021/acs.jnatprod.2c01139.
- 109.** Scuderi C, Steardo L, Esposito G. Cannabidiol promotes amyloid precursor protein ubiquitination and reduction of beta amyloid expression in SHSY5Y^{APP+} cells through

PPAR γ involvement. *Phytotherapy Research*. 2014; 28(7):1007–13. doi: 10.1002/ptr.5095.

110. Brunetti P, Lo Faro AF, Pirani F, Berretta P, Pacifici R, Pichini S, et al. Pharmacology and legal status of cannabidiol. *Ann Ist Super Sanita*. 2020; 56(3):285–91. doi: 10.4415/ANN_20_03_06.

111. Nichols JM, Kaplan BLF. Immune Responses regulated by cannabidiol. *Cannabis Cannabinoid Res*. 2020; 5(1):12–31. doi: 10.1089/can.2018.0073.

112. Fernández-Ruiz J, Sagredo O, Pazos MR, García C, Pertwee R, Mechoulam R, et al. Cannabidiol for neurodegenerative disorders: Important new clinical applications for this phytocannabinoid? *Br J Clin Pharmacol*. 2013;75(2):323–33. doi: 10.1111/j.1365-2125.2012.04341.x.

113. Atalay S, Jarocka-karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. *Antioxidants*. 2020;9(1):21. doi: 10.3390/antiox9010021.

114. Iffland K, Grotenhermen F. An Update on Safety and Side Effects of Cannabidiol: A Review of Clinical Data and Relevant Animal Studies. *Cannabis Cannabinoid Res*. 2017;2(1):139–154. doi: 10.1089/can.2016.0034.

115. Huestis MA, Solimini R, Pichini S, Pacifici R, Carlier J, Busardò FP. Cannabidiol Adverse Effects and Toxicity. *Curr Neuropharmacol*. 2019;17(10):974–989. doi: 10.2174/1570159X17666190603171901.

116. Garrett X ER, Gouyette AJ, Roseboom H. Stability of Tetrahydrocannabinols II. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1978;67(1):27–32. doi: 10.1002/jps.2600670108.

117. Maioli C, Mattoteia D, Amin HIM, Minassi A, Caprioglio D. Cannabinol: History, Syntheses, and Biological Profile of the Greatest “Minor” Cannabinoid. *Plants*. 2022;11(21):2896. doi: 10.3390/plants11212896.

118. Rhee MH, Vogel Z, Barg J, Bayewitch M, Levy R, Hanuš L, et al. Cannabinol Derivatives: Binding to Cannabinoid Receptors and Inhibition of Adenylyl cyclase. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1997;40(20):3228–33. doi: 10.1021/jm970126f.

119. Wong H, Cairns BE. Cannabidiol, cannabinol and their combinations act as peripheral analgesics in a rat model of myofascial pain. *Arch Oral Biol*. 2019;104:33–39. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.05.028.

120. Gojani EG, Wang B, Li DP, Kovalchuk O, Kovalchuk I. Anti-Inflammatory Effects of Minor Cannabinoids CBC, THCV, and CBN in Human Macrophages. *Molecules*. 2023;28(18):6487. doi:10.3390/molecules28186487.

121. Mancini A, Stratigos A, Guez S, Bourrat E, Kiritsi D, Samuelov L, et al. InMed Pharmaceuticals. 2023 Results from a Phase 2 Clinical Trial in Epidermolysis Bullosa. Disponível em: <https://www.inmedpharma.com/pharmaceutical/inm-755-for-epidermolysis-bullosa/>. Acesso em setembro de 2024.

122. Zamberletti E, Rubino T, Parolaro D. Therapeutic potential of cannabidiol for epilepsy and autism spectrum disorder. *Pharmacol Ther.* 2021;226 :107878. doi: 10.1016/j.pharmthera.2021.107878.
123. Laun AS, Shrader SH, Brown KJ, Song ZH. GPR3, GPR6, and GPR12 as novel molecular targets: their biological functions and interaction with cannabidiol. *Acta Pharmacol Sin.* 2019;40(3):300–308. doi: 10.1038/s41401-018-0031-9.
124. Huizenga MN, Sepulveda-Rodriguez A, Forcelli PA. Preclinical safety and efficacy of cannabidiol for early life seizures. *Neuropharmacology.* 2019;148:189–98. doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.01.002.
125. Farinon B, Molinari R, Costantini L, Merendino N. The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition. *Nutrients.* 2020;12(7):1935. doi: 10.3390/nu12071935.
126. Iftikhar A, Zafar U, Ahmed W, Shabbir MA, Sameen A, Sahar A, et al. Applications of *Cannabis sativa* L. In food and its therapeutic potential: From a prohibited drug to a nutritional supplement. *Molecules.* 2021;26(24): :7699. doi: 10.3390/molecules26247699.
127. Bartončíková M, Lapčíková B, Lapčík L, Valenta T. Hemp-Derived CBD Used in Food and Food Supplements. *Molecules.* 2023;28(24) :8047. doi: 10.3390/molecules28248047.
128. King JW. The relationship between cannabis/hemp use in foods and processing methodology. *Curr Opin Food Sci.* 2019;28:32–40. doi: 10.1016/j.cofs.2019.04.007.
129. Parlamento Europeu. Regulamento (UE) n.º 2015/2283 de 25 de novembro de 2015. *Jornal Oficial da União Europeia.* 2015. p. 1-22. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R2283&from=PT>. Acesso em maio de 2024.
130. DGAV-Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Novos alimentos: A Canábis como Alimento. [Internet]. República portuguesa. 2023. Disponível em: <https://www.dgav.pt/alimentos/conteudo/generos-alimenticios/garantir-a-seguranca-dos-alimentos/novos-alimentos-2/>. Acesso em maio de 2024.
131. Economia e Transição Digital, Finanças, Administração Interna, Justiça, Saúde, Agricultura. Portaria no 83/2021. *Diário da República, Número: 73 Série 1, de 15 de abril; Portugal.* 2021 p. 5–12. Disponível em: <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/portaria/83-2021-161433504>. Acesso em junho de 2024.
132. Comissão Europeia. Regulamento (UE) nº 2023/915, de 25 de abril: Teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia Comissão Europeia;* 2023 p. 103–19. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023R0915>. Acesso junho de 2024.

- 133.** ASAE- Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. É possível o uso de Cânhamo (*Cannabis sativa*) e/ou CBD (canabidiol) em Alimentos? Internet]. República Portuguesa. 2021 Nov; Disponível em: <https://www.asae.gov.pt/newsletter2/asaenews-n-124-novembro-2021/uso.aspx>. Acesso em junho de 2024.
- 134.** Curioni C, André C. Rimonabant for overweight or obesity. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2006; 2006(4):CD006162. doi: 10.1002/14651858.CD006162.pub2.
- 135.** CHMP- CHMP Committee for Medicinal Products for Human Use. Anexo 1: Conclusões científicas e fundamentos da suspensão da autorização de introdução no mercado. Lisboa, Portugal; 2008. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2008/2008111352813/anx_52813_pt.pdf. Acesso em maio de 2024.
- 136.** Martinelli G, Magnavacca A, Fumagalli M, Dell'Agli M, Piazza S, Sangiovanni E. *Cannabis sativa* and Skin Health: Dissecting the Role of Phytocannabinoids. *Planta Med.* 2022;88(7):492–506. doi: 10.1055/a-1420-5780.
- 137.** Atalay S, Dobrzyńska I, Gęgotek A, Skrzydlewska E. Cannabidiol protects keratinocyte cell membranes following exposure to UVB and hydrogen peroxide. *Redox Biol.* 2020;36: 101613. doi: 10.1016/j.redox.2020.101613.
- 138.** Oláh A, Markovics A, Szabó-Papp J, Szabó PT, Stott C, Zouboulis CC, et al. Differential effectiveness of selected non-psychotropic phytocannabinoids on human sebocyte functions implicates their introduction in dry/seborrhoeic skin and acne treatment. *Exp Dermatol.* 2016;25(9):701–7. doi: 10.1111/exd.13042.
- 139.** Rajaram S. Health benefits of plant-derived α -linolenic acid. *American Journal of Clinical Nutrition.* 2014;100 Suppl 1:S443–8. doi: 10.3945/ajcn.113.071514.
- 140.** Callaway J, Schwab U, Harvima I, Halonen P, Mykkänen O, Hyvönen P, et al. Efficacy of dietary hempseed oil in patients with atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Treatment.* 2005;16(2):87–94. doi: 10.1080/09546630510035832.
- 141.** Casares L, García V, Garrido-Rodríguez M, Millán E, Collado JA, García-Martín A, et al. Cannabidiol induces antioxidant pathways in keratinocytes by targeting BACH1. *Redox Biol.* 2020; 28:101321. doi: 10.1016/j.redox.2019.101321.
- 142.** Sanz-Gómez N, Freije A, Gandarillas A. Keratinocyte differentiation by flow cytometry. In: Turksen K, editor. *Epidermal cells. Methods in Molecular Biology.* Vol. 2109. New York, NY: Humana; 2019.p. 83-92. doi: 10.1007/7651_2019_237.
- 143.** Paes-Colli Y, Aguiar AFL, Isaac AR, Ferreira BK, Campos RMP, Trindade PMP, et al. Phytocannabinoids and *Cannabis*-Based Products as Alternative Pharmacotherapy in Neurodegenerative Diseases: From Hypothesis to Clinical Practice. *Frontiers in Cellular Neuroscience.* 2022; 16:917164. doi: 10.3389/fncel.2022.917164.

- 144.** Leng F, Edison P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here? *Nat Rev Neurol.* 2021;17(3):157–72. doi: 10.1038/s41582-020-00435-y.
- 145.** Zhang SS, Zhang NN, Guo TT, Sheen LY, Ho CT, Bai NS. The impact of phyto- and endo-cannabinoids on central nervous system diseases : A review. *J Tradit Complement Med.* 2023;13(1):30–8. doi: 10.1016/j.jtcme.2022.
- 146.** Trist BG, Hare DJ, Double KL. Oxidative stress in the aging substantia nigra and the etiology of Parkinson’s disease. *Aging Cell.* 2019;18(6):e13031. doi: 10.1111/accel.13031.
- 147.** Mack JM, Schamne MG, Sampaio TB, Pértile RAN, Fernandes PACM, Markus RP, et al. Melatonergic System in Parkinson’s Disease: From Neuroprotection to the Management of Motor and Nonmotor Symptoms. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016: 3472032. doi: 10.1155/2016/3472032.
- 148.** Van Laere K, Casteels C, Lunsken S, Goffin K, Grachev ID, Bormans G, et al. Regional changes in type 1 cannabinoid receptor availability in Parkinson’s disease in vivo. *Neurobiol Aging.* 2012;33(3): 620.e1-620.e8. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2011.02.009.
- 149.** Criscuolo C, Mancini P, Menchise V, Saccà F, De Michele G, Banfi S, et al. Very late onset in ataxia oculomotor apraxia type I. *Ann Neurol.* 2005;57(5):777. doi: 10.1002/ana.20463.
- 150.** Stampanoni Bassi M, Sancesario A, Morace R, Centonze D, Iezzi E. Cannabinoids in Parkinson’s Disease. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2017;2(1):21–9. doi: 10.1089/can.2017.0002.
- 151.** Carroll CB, Zeissler ML, Hanemann CO, Zajicek JP. Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) exerts a direct neuroprotective effect in a human cell culture model of Parkinson’s disease. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2012;38(6):535–47. doi: 10.1111/j.1365-2990.2011.01248.x.
- 152.** González-Hernández T, Cruz-Muros I, Afonso-Oramas D, Salas-Hernandez J, Castro-Hernandez J. Vulnerability of mesostriatal dopaminergic neurons in Parkinson’s disease. *Front Neuroanat.* 2010; 4:140. doi: 10.3389/fnana.2010.00140.
- 153.** Fernández-Ruiz J, García C, Sagredo O, Gómez-Ruiz M, De Lago E. The endocannabinoid system as a target for the treatment of neuronal damage. *Expert Opin Ther Targets.* 2010;14(4):387–404. doi: 10.1517/14728221003709792.
- 154.** Lotan I, Treves TA, Roditi Y, Djaldetti R. *Cannabis* (Medical Marijuana) treatment for motor and non-motor symptoms of parkinson disease: An open-label observational study. *Clin Neuropharmacol.* 2014;37(2):41–4. doi: 10.1097/WNF.000000000000016.
- 155.** Chagas MHN, Eckeli AL, Zuardi AW, Pena-Pereira MA, Sobreira-Neto MA, Sobreira ET, et al. Cannabidiol can improve complex sleep-related behaviours associated

with rapid eye movement sleep behaviour disorder in Parkinson's disease patients: A case series. *J Clin Pharm Ther.* 2014; 39(5):564–6. doi: 10.1111/jcpt.12179.

156. Zuardi AW, Crippa JAS, Hallak JEC, Pinto JP, Chagas MHN, Rodrigues GGR, et al. Cannabidiol for the treatment of psychosis in Parkinson's disease. *J Psychopharmacol.* 2009; 23(8):979–83. doi: 10.1177/0269881108096519.

157. Antonazzo M, Botta M, Bengoetxea H, Ruiz-Ortega JÁ, Morera-Herreras T. Therapeutic potential of cannabinoids as neuroprotective agents for damaged cells conducting to movement disorders. In: Blesa J, Lanciego JL, editors. *International Review of Neurobiology.* Vol. 146, Chapter 8. Academic Press Inc.; 2019. p. 229-57. doi: 10.1016/bs.irn.2019.06.012.

158. Chung YC, Bok E, Huh SH, Park JY, Yoon SH, Kim SR, et al. Cannabinoid receptor type 1 protects nigrostriatal dopaminergic neurons against MPTP neurotoxicity by inhibiting microglial activation. *J Immunol.* 2011; 187(12):6508–17. doi: 10.4049/jimmunol.1102435.

159. García C, Palomo-Garo C, García-Arencibia M, Ramos JA, Pertwee RG, Fernández-Ruiz J, et al. Symptom-relieving and neuroprotective effects of the phytocannabinoid Δ^9 -THCV in animal models of Parkinson's disease. *British journal of pharmacology.* 2011; 163(7 Special Issue:Cannabinoids in Biology and Medicine, Part I.):1495–506. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01278.x.

160. Ojha S, Javed H, Azimullah S, Haque ME. β -Caryophyllene, a phytocannabinoid attenuates oxidative stress, neuroinflammation, glial activation, and salvages dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson disease. *Mol Cell Biochem.* 2016; 418(1–2):59–70. doi: 10.1007/s11010-016-2733-y.

161. Alzheimer's Association. 2021 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's and Dementia.* 2021; 17(3):327–406. doi:10.1002/alz.12328.

162. Coles M, Steiner-Lim GZ, Karl T. Therapeutic properties of multi-cannabinoid treatment strategies for Alzheimer's disease. *Front Neurosci.* 2022; 16: 962922. doi: 10.3389/fnins.2022.962922.

163. Paes-Colli Y, Aguiar AFL, Isaac AR, Ferreira BK, Campos RMP, Trindade PMP, et al. Phytocannabinoids and Cannabis-based products as alternative pharmacotherapy in neurodegenerative diseases: from hypothesis to clinical practice. *Front Cell Neurosci.* 2022; 16 :917164. doi: 10.3389/fncel.2022.917164.

164. Esposito G, Iuvone T, Savani C, Scuderi C, De Filippis D, Papa M, et al. Opposing control of cannabinoid receptor stimulation on amyloid- β -induced reactive gliosis: In vitro and in vivo evidence. *J Pharmacol Exper Therap.* 2007; 322(3):1144–52. doi: 10.1124/jpet.107.121566.

165. Ramírez BG, Blázquez C, Gómez Del Pulgar T, Guzmán M, De Ceballos ML. Prevention of Alzheimer's disease pathology by cannabinoids: Neuroprotection mediated by blockade of microglial activation. *J Neurosci.* 2005; 25(8):1904–13. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4540-04.2005.

166. Altamura C, Ventriglia M, Martini MG, Montesano D, Errante Y, Piscitelli F, et al. Elevation of plasma 2-arachidonoylglycerol levels in alzheimer's disease patients as a potential protective mechanism against neurodegenerative decline. *J Alzheimer's Dis.* 2015; 46(2):497–506. doi: 10.3233/JAD-142349.
167. Esposito G, De Filippis D, Carnuccio R, Izzo AA, Iuvone T. The marijuana component cannabidiol inhibits β -amyloid-induced tau protein hyperphosphorylation through Wnt/ β -catenin pathway rescue in PC12 cells. *J Mol Med.* 2006; 84(3):253–8. doi: 10.1007/s00109-005-0025-1.
168. Esposito G, De Filippis D, Maiuri MC, De Stefano D, Carnuccio R, Iuvone T. Cannabidiol inhibits inducible nitric oxide synthase protein expression and nitric oxide production in β -amyloid stimulated PC12 neurons through p38 MAP kinase and NF- κ B involvement. *Neurosci Lett.* 2006; 399(1–2):91–5. doi: 10.1016/j.neulet.2006.01.047.
169. Mooko T, Bala A, Tripathy S, Kumar CS, Mahadevappa CP, Chaudhary SK, et al. *Cannabis Sativa* L. Flower and bud extracts inhibited *in vitro* cholinesterases and β -secretase enzymes activities: Possible mechanisms of cannabis use in Alzheimer disease. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2022; 22(3):297–309. doi: 10.2174/1871530321666210222124349.
170. 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. doi: 10.1038/sj.bjp.0707337.
171. Cao C, Li Y, Liu H, Bai G, Mayl J, Lin X, et al. The potential therapeutic effects of THC on Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis.* 2014; 42(3):973–84. doi: 10.3233/JAD-140093.
172. Suliman NA, Taib CNM, Moklas MAM, Basir R. Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) induce neurogenesis and improve cognitive performances of male sprague dawley Rats. *Neurotox Res.* 2018; 33(2):402–11. doi: 10.1007/s12640-017-9806-x.
173. Whiting PF, Wolff RF, Deshpande S, Di Nisio M, Duffy S, Hernandez A V., et al. Cannabinoids for medical use: A systematic review and meta-analysis. *JAMA - Journal of the American Medical Association.* 2015; 313(24):2456–73. doi: 10.1001/jama.2015.6358.
174. Casarejos MJ, Perucho J, Gomez A, Muñoz MP, Fernandez-Estevez M, Sagredo O, et al. Natural cannabinoids improve dopamine neurotransmission and tau and amyloid pathology in a mouse model of tauopathy. *J Alzheimer's Dis.* 2013; 35(3):525–39. doi: 10.3233/JAD-130050.
175. Schubert D, Kepchia D, Liang Z, Dargusch R, Goldberg J, Maher P. Efficacy of cannabinoids in a pre-clinical drug-screening platform for Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol.* 2019; 56(11):7719–30. doi: 10.1007/s12035-019-1637-8.

176. Giacoppo S, Mazzon E. Can cannabinoids be a potential therapeutic tool in amyotrophic lateral sclerosis? *Neural Regen Res.* 2016; 11(12):1896–9. doi: 10.4103/1673-5374.197125.
177. Zarei S, Carr K, Reiley L, Diaz K, Guerra O, Altamirano PF, et al. A comprehensive review of amyotrophic lateral sclerosis. *Surg Neurol Int.* 2015; 6:171. doi: 10.4103/2152-7806.169561.
178. Butti Z, Patten SA. RNA dysregulation in amyotrophic lateral sclerosis. *Front Genet.* 2019; 9: 712. doi: 10.3389/fgene.2018.00712.
179. Rodríguez-Cueto C, García-Toscano L, Santos-García I, Gómez-Almería M, Gonzalo-Consuegra C, Espejo-Porras F, et al. Targeting the CB 2 receptor and other endocannabinoid elements to delay disease progression in amyotrophic lateral sclerosis. *Br J Pharmacol.* 2021; 178(6):1373–87. doi: 10.1111/bph.15386.
180. Moreno-Martet M, Espejo-Porras F, Fernández-Ruiz J, De Lago E. Changes in endocannabinoid receptors and enzymes in the spinal cord of SOD1^{G93A} transgenic mice and evaluation of a Sativex®-like combination of phytocannabinoids: Interest for future therapies in amyotrophic lateral sclerosis. *CNS Neurosci Ther.* 2014; 20(9):809–15. doi: 10.1111/cns.12262.
181. Espejo-Porras F, Fernández-Ruiz J, de Lago E. Analysis of endocannabinoid receptors and enzymes in the post-mortem motor cortex and spinal cord of amyotrophic lateral sclerosis patients. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2018; 19(5–6):377–86. doi: 10.1080/21678421.2018.1425454.
182. Zhao P, Ignacio S, Beattie EC, Abood ME. Altered presymptomatic AMPA and cannabinoid receptor trafficking in motor neurons of ALS model mice: Implications for excitotoxicity. *Eur J Neurosci.* 2008; 27(3):572–9. doi: 10.1111/j.1460-9568.2008.0604.
183. Rossi S, De Chiara V, Musella A, Cozzolino M, Bernardi G, MacCarrone M, et al. Abnormal sensitivity of cannabinoid CB1 receptors in the striatum of mice with experimental amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler.* 2010; 11(1–2):83–90. doi: 10.3109/17482960902977954.
184. Raman C, McAllister SD, Rizvi G, Patel SG, Moore DH, Abood ME. Amyotrophic lateral sclerosis: Delayed disease progression in mice by treatment with a cannabinoid. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord.* 2004; 5(1):33–9. doi: 10.1080/14660820310016813.
185. Fernandez-Ruiz J, Espejo-Porras F, García-Toscano L, Rodríguez-Cueto C, Santos-García I, De Lago E. Targeting glial cannabinoid CB2 receptors to delay the progression of the pathological phenotype in TDP-43 (A315T) transgenic mice, a model of amyotrophic lateral sclerosis. *Br J Pharmacol.* 2019; 176(10):1585-1600. doi: 10.1111/bph.14216.
186. Rodríguez-Cueto C, Santos-García I, García-Toscano L, Espejo-Porras F, Bellido MI, Fernández-Ruiz J, et al. Neuroprotective effects of the cannabigerol quinone derivative VCE-003.2 in SOD1^{G93A} transgenic mice, an experimental model of

amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Pharmacol.* 2018; 157:217–26. doi: 10.1016/j.bcp.2018.07.049.

187. Meyer T, Funke A, Münch C, Kettemann D, Maier A, Walter B, et al. Real world experience of patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in the treatment of spasticity using tetrahydrocannabinol: cannabidiol (THC:CBD). *BMC Neurol.* 2019; 19(1):222. doi: 10.1186/s12883-019-1443-y.

188. INFARMED I.P. – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. Canábis para fins medicinais [Internet]. INFARMED I.P. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/canabis-medicinal>. Acesso em maio de 2024.

189. Assembleia da República. Lei n.º 33/2018: Diário da República, 1.ª série, N.º 137, de 18 de julho; Portugal; 2018 p. 3241–2.

190. INFARMED I.P- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. Deliberação n.º 11/CD/2019. Conselho Diretivo do INFARMED, I.P. Portugal; 2019 p. 1–3. 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>. Acesso em junho de 2024.

191. Johnson KA, Worbe Y, Foote KD, Butson CR, Gunduz A, Okun MS. Tourette syndrome: clinical features, pathophysiology, and treatment. *Lancet Neurol.* 2023;22(2):147-158. doi: 10.1016/S1474-4422(22)00303-9.

192. Strzelczyk A, Lagae L, Wilmshurst JM, Brunklaus A, Striano P, Rosenow F, et al. Dravet syndrome: A systematic literature review of the illness burden. *Epilepsia Open.* 2023; 8(4):1256-1270. doi: 10.1002/epi4.12832.

193. INFARMED I.P- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. Resumo das características do medicamento (RCM)- Tilray Solução Oral THC 5 : CBD 2. [Internet]. Lisboa; INFARMED I.P. 2024. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>. Acesso em junho de 2024.

194. OPCM- Observatório Português de Canábis Medicinal. Canábis Medicinal Aprovada [Internet]. Lisboa; OPCM; 2024 Disponível em: <https://opcm.pt/canabis-medicinal-aprovada/>. Acesso em julho de 2024.

195. INFARMED I.P- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. Resumo das características do medicamento (RCM)- Sativex solução para pulverização bucal [Internet]. Lisboa; INFARMED I.P. 2024 Disponível em: <https://opcm.pt/wp-content/uploads/2021/02/sativex-RESUMO-DAS-CARACTER%C3%8DSTICAS-DO-MEDICAMENTO.pdf>. Acesso em julho de 2024.

196. INFARMED I.P- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. Resumo das Características do medicamento (RCM)- Epidyolex 100 mg/ml solução oral [Internet]. Lisboa; INFARMED I.P. 2024 Disponível em:

https://www.ema.europa.eu/pt/documents/product-information/epidyolex-epar-product-information_pt.pdf. Acesso em julho de 2024.

197. INFARMED I.P- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. Resumo das características do medicamento (RCM)- Tilray Flor Seca THC 18 [Internet]. Lisboa; INFARMED I.P. 2024 Disponível em: https://opcm.pt/wp-content/uploads/2021/02/Tilray-Flor-Seca-THC18_instrucoes_de_utilizacao.pdf. Acesso em julho de 2024.

198. INFARMED I.P- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. Resumo das características do medicamento (RCM)- Satalliv 10 mg/ml solução oral [Internet]. Lisboa; INFARMED I.P. 2024 Disponível em: <https://opcm.pt/wp-content/uploads/2024/05/Instrucoes-Utillizacao-Satalliv.pdf>. Acesso em julho de 2024.

199. INFARMED I.P- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. Resumo das características do medicamento (RCM)- HEXACAN – Hexa01. Lisboa; INFARMED I.P. 2024. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>. Acesso em julho de 2024.

200. Cristino L, Bisogno T, Di Marzo V. Cannabinoids and the expanded endocannabinoid system in neurological disorders. *Nat Rev Neurol*. 2020;16(1):9–29. doi: 10.1038/s41582-019-0284-z.

201. Viana TRX, Venute LP, Coelho AT, Souza DR, Deus RX, Cesar AC, et al. *Cannabis medicinal: Uma revisão sobre as perspectivas atuais e desafios futuros na prática clínica*. *J Res Med Health*. 2024;2:e202401. doi:10.52832/jormed.v2.403.