



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Instituto de Química

QUÍMICA TECNOLÓGICA

LARISSA CAVALCANTE ANTUNES

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS
TERAPÊUTICOS À BASE DE CANNABIS SATIVA**

Brasília, DF

2024

CIP - Catalogação na Publicação

AAN636a Antunes, Larissa Cavalcante.
Avaliação da capacidade antioxidante de óleos
terapêuticos à base de Cannabis Sativa / Larissa Cavalcante
Antunes; orientador Ana Cristi Basile Dias. -- Brasília,
2024.
58 p.

Monografia (Graduação - Química Tecnológica) --
Universidade de Brasília, 2024.

1. Capacidade antioxidante. 2. Cannabis Sativa. 3. Óleos
terapêuticos. 4. Diluentes. 5. Entourage. I. Dias, Ana
Cristi Basile, orient. II. Título.

LARISSA CAVALCANTE ANTUNES

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS
TERAPÊUTICOS À BASE DE CANNABIS SATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso em Química Tecnológica apresentado ao Instituto de Química da Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Química Tecnológica.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cristi Basile Dias

BRASÍLIA, DF

2024

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo sustento e forças para superar as dificuldades que encontrei pelo caminho.

Aos meus pais, Iriovaldo e Erotides, meu imenso agradecimento pelo apoio, compreensão e incentivo nas horas difíceis, de desânimo, ansiedade e cansaço, me oferecendo suporte, conselhos e amor incondicional em cada passo desta jornada, além de sempre destacarem a importância do estudo na concretização de meus sonhos.

Aos meus irmãos, Isabelle e Victor Hugo, pelo suporte, momentos de risada e distração que me relaxavam, e por entender a minha ausência em certas ocasiões.

Ao meu namorado, Pedro Augusto, por me auxiliar e acalmar em momentos de estresse e frustração, ouvindo meus lamentos, e por sempre me fazer sorrir, me dar forças e demonstrar todo o seu amor.

Agradeço à minha maravilhosa orientadora, professora Ana Cristi, por todos os ensinamentos ao longo deste período, pela paciência, mensagens de tranquilidade e por estar sempre disponível para me ajudar. Agradeço também à professora Fernanda, que apesar de não estar no papel, foi como uma coorientadora para mim, me auxiliando e aconselhando. Muito obrigada por toda confiança que me foram depositadas!

A todos os integrantes do grupo LIAMA pelo acolhimento, ajuda, cafezinhos e momentos de fofocas. Um agradecimento especial para a Maria Vitória e a Juliana, que sempre me ajudaram desde o início do meu PIBIC, com conselhos, ensinamentos, e por me acalmarem nos meus momentos de frustração e deixarem os meus dias e noites mais felizes, muito obrigada!

Obrigada aos familiares e parentes, que sempre me apoiaram através de mensagens sinceras e de motivação, em especial a minha tia Maria Rosa, que infelizmente faleceu durante a realização do meu TCC, que sempre me encorajava e elogiava a minha dedicação e responsabilidade com meus estudos e sonhos, além de proporcionar muito amor e carinho.

Agradeço também a todos os meus amigos, especialmente a Linara, Guilber e Tiago, que fizeram a minha jornada universitária muito mais divertida e leve, e por estarem comigo em momentos de crises e dificuldades. Obrigada a todo apoio e motivação que me foram dadas.

À UnB (Universidade de Brasília) e ao Instituto de Química (IQ), por me proporcionar um ensino de excelência e qualidade através de professores dedicados e atenciosos, bem como a participação de Projetos e atividade de Extensão, como a CSTQ Jr., que auxiliaram no meu desenvolvimento e aprendizado.

"O homem não teria alcançado o possível se, repetidas vezes, não tivesse tentado o impossível". – Max Weber

RESUMO

O uso da *Cannabis sativa* de forma medicinal é documentado ao longo da história em diversos países para tratamento de doenças e sintomas. A Cannabis possui diversos componentes com propriedades medicinais, destacando-se os canabinoides. A Associação de Apoio à Pesquisa e Pacientes de Cannabis Medicinal (APEPI) produz e fornece óleos à base de Cannabis para utilização medicinal e terapêutica, devido às suas características e resultados no tratamento de enfermidades, principalmente crônicas e degenerativas, as quais estão interligadas com o estresse oxidativo das células humanas. Diante disto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade antioxidante dos óleos terapêuticos à base de Cannabis fornecidos pela APEPI, por meio de dois métodos espectrofotométricos, baseados no ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) e o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Ademais, três óleos diluentes de extratos da Cannabis foram avaliados em função da capacidade antioxidante: azeite de oliva extravirgem, óleo de TCM (Triglicerídeos de cadeia média) e óleo de gergelim, onde foi possível averiguar que o azeite de oliva e o óleo de gergelim possuem valores de atividade antioxidante relativamente altos pelo método DPPH, 76 % e 51%, respectivamente, devido à presença de moléculas com átomos de hidrogênio disponíveis para doação em suas estruturas. As amostras dos óleos terapêuticos analisadas, *Purple Wreck*, *Schanti*, *Harle Tsu* e *Doctor*, mostraram capacidade antioxidante acima de 70% nos dois métodos, o que pode estar relacionado tanto com a presença de canabinoides, quanto com o efeito *entourage*, interações sinérgicas que melhoram os resultados terapêuticos, com outros componentes presentes, como terpenos, flavonoides ou o próprio diluente. Desta forma, conclui-se que todos os óleos terapêuticos analisados evidenciam a propriedade antioxidante dos produtos, contendo também uma relação com o tipo de diluente utilizado.

Palavras-chave: *Cannabis sativa*; ABTS; *Entourage*; Diluentes.

ABSTRACT

The medicinal use of *Cannabis sativa* is documented throughout history in various countries for the treatment of diseases and symptoms. Cannabis contains several components with medicinal properties, with cannabinoids being the most notable. The Association for Support of Research and Patients of Medicinal Cannabis (APEPI) produces and provides Cannabis-based oils for medicinal and therapeutic use, due to their characteristics and results in the treatment of diseases, particularly chronic and degenerative ones, which are linked to oxidative stress in human cells. In light of this, the present study aims to evaluate the antioxidant capacity of the therapeutic Cannabis-based oils provided by APEPI using two spectrophotometric methods based on ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Additionally, three diluent oils for Cannabis extracts were evaluated for their antioxidant capacity: extra virgin olive oil, MCT oil (medium chain triglycerides), and sesame oil, where it was found that olive oil and sesame oil have relatively high antioxidant activity values by the DPPH method, 76% and 51%, respectively, due to the presence of molecules with hydrogen atoms available for donation in their structures. The samples of the therapeutic oils analyzed, Purple Wreck, Schanti, Harle Tsu, and Doctor, showed antioxidant capacity above 70% in both methods, which may be related to both the presence of cannabinoids and the entourage effect, synergistic interactions that enhance therapeutic outcomes, with other components present, such as terpenes, flavonoids, or the diluent itself. Thus, it is concluded that all the therapeutic oils analyzed demonstrate the antioxidant property of the products, also showing a relationship with the type of diluent used.

Key-words: Cannabis sativa; ABTS; Entourage; Diluents.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Cannabis sativa L. (a) aspecto planta ; (b) inflorescência; (c) semente; (d) folha; (e) caule.....	15
Figura 2. Reação de descarboxilação dos canabinoides ácidos.....	17
Figura 3. Estruturas químicas do tetrahydrocannabinol (THC) e do canabidiol (CBD).....	17
Figura 4. Estruturas químicas de alguns terpenos presentes na Cannabis.....	19
Figura 5. Estruturas químicas de alguns flavonóides presentes na Cannabis.....	19
Figura 6. Estrutura molecular do TCM	22
Figura 7. Estrutura de compostos fenólicos presentes no azeite. (a) Apigenina; (b) Luteolina; (c) Hidroxitirosol; (d) Tirosol; (e) Ácido Siringico; (f) Oleocantal; (g) Oleuropeína.....	22
Figura 8. Componentes antioxidantes presentes no óleo de gergelim.....	23
Figura 9. Mecanismo de reação do DPPH para determinação da capacidade antioxidante.....	25
Figura 10. Reação de estabilização do ABTS•+ em contato com antioxidante	26
Figura 11. Frascos das amostras de óleos da APEPI.....	29
Figura 12. Embalagens do azeite de oliva, TCM e óleo de gergelim.....	30
Figura 13. Disposição dos óleos preparados a partir dos extratos da APEPI.....	31
Figura 14. Espectro UV-Vis da solução de DPPH	34
Figura 15. Curva cinética das amostras	35
Figura 16. Espectro das leituras das amostras após reação com DPPH	37
Figura 17. Espectro UV-Vis da clorofila.....	38
Figura 18. Soluções do teste qualitativo de coloração (a) solução de DPPH; (b) solução de DPPH com óleo Harle Tsu; (c) solução com óleo Harle Tsu e acetato de etila.....	39
Figura 19. Amostras dos extratos diluídos em diferentes diluentes em reação com o DPPH..	40
Figura 20. Espectro UV-Vis da reação de DPPH com os diluentes.....	41
Figura 21. Espectro UV-Vis da solução de ABTS•+	42
Figura 22. Espectro das leituras das amostras após reação com ABTS	44
Figura 23. Amostras dos óleos terapêuticos em reação com ABTS•+	45
Figura 24. Espectro UV-Vis da reação de ABTS com os diluentes.....	46
Figura 25. Amostras dos extratos diluídos em diferentes diluentes em reação com o ABTS..	47
Figura 26. Amostras de ácido ascórbico em reação (a) método ABTS; (b) método DPPH.....	48
Figura 27. Curva analítica do ácido ascórbico com os métodos ABTS e DPPH	49
Figura 28. Correlação entre os métodos em relação a capacidade antioxidante	49

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Composição dos óleos terapêuticos a base de Cannabis da APEPI.....	29
Tabela 2. Amostras dos extratos medicinais de Cannabis da APEPI.....	29
Tabela 3. Composição dos óleos terapêuticos preparados a partir dos extratos da APEPI.....	31
Tabela 4. Resultados das amostras pelo método DPPH	36
Tabela 5. Resultados das amostras de extratos diluídas em diferentes diluentes pelo método DPPH	40
Tabela 6. Resultados das amostras de diluentes pelo método DPPH.....	41
Tabela 7. Resultados das amostras pelo método ABTS	43
Tabela 8. Resultados das amostras de extratos diluídas em diferentes diluentes pelo método ABTS	46
Tabela 9. Resultados das amostras de diluentes pelo método ABTS	46

LISTAS DE EQUAÇÕES

Equação 1.	Cálculo da Capacidade Antioxidante DPPH	32
Equação 2.	Cálculo da Capacidade Antioxidante ABTS.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
AOEV	Azeite de Oliva Extravirgem
CBD	Canabidiol
CBC	Canabicromeno
CBG	Canabigerol
CA	Capacidade Antioxidante
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
TCM	Triglicerídeos de cadeia média
THC	Δ^9 -Tetrahydrocannabinol

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. Objetivos Gerais	14
2.2. Objetivos Específicos	14
3. REVISÃO TEÓRICA	15
3.1. Origem da Cannabis sativa.....	15
3.2 Composição	16
3.3. Efeito Entourage	19
3.5. Tipos de diluentes dos extratos de Cannabis	21
3.6. Legislação.....	23
3.7. Associações produtoras de óleos a base de cannabis	24
3.8. Capacidade Antioxidante.....	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1. Reagentes.....	27
4.2. Materiais	28
4.3. Equipamentos	28
4.4. Amostras.....	28
4.5. Preparo de amostra e soluções.....	30
4.6. Métodos	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1. Capacidade Antioxidante – DPPH	33
5.1.1. Estabilidade e precisão das medidas.....	33
5.1.2. Estudo da cinética reacional do DPPH com os óleos terapêuticos.....	34
5.1.3. Análise dos óleos terapêuticos APEPI.....	36

5.1.4. Análise dos diluentes	39
5.2. Capacidade Antioxidante - ABTS	42
5.2.1 Análise de Solubilidade	42
5.2.2. Estabilidade e precisão das medidas da solução de ABTS ^{•+}	42
5.2.3. Estudo da quantidade de amostra de óleo medicamentoso.....	43
5.2.4. Análise dos óleos terapêuticos APEPI.....	43
5.2.5. Análise dos diluentes	45
5.3. Análise comparativa dos métodos	47
6. CONCLUSÃO.....	51
7. REFERÊNCIAS	53

1. INTRODUÇÃO

A *Cannabis sativa*, conhecida popularmente como maconha, tem sido utilizada há anos com propósito medicinal para o tratamento de doenças e alívio de sintomas, devido, principalmente a presença de canabinoides. Dentre os canabinoides, os que se destacam são o THC (Δ^9 -Tetrahydrocannabinol), que é o componente psicoativo, e o CBD (Canabidiol), que não é psicoativo, mas possui grande potencial farmacológico, especialmente em relação a propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Ambos compostos agem via receptores endocanabinoides, os quais estão ligados a atividades neurotransmissoras e imunológicas. Devido a essas características, é comum a utilização de Cannabis para o tratamento de doenças crônicas, como câncer, esclerose múltipla e esquizofrenia, bem como neurodegenerativas, Alzheimer e Parkinson (Bhunia *et al.*, 2022; Vučkovic *et al.*, 2018).

O surgimento ou evolução de doenças crônicas ou neurodegenerativas está associado ao estresse oxidativo, que é o desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a capacidade do sistema antioxidante das células, não conseguindo neutralizar o excesso de espécies reativas (Bhunia *et al.*, 2022). Este estresse oxidativo ocorre devido a grande quantidade de radicais livres, os quais são gerados constantemente no metabolismo celular e em diversos eventos patológicos, em razão deste excesso acaba se tendo a oxidação das moléculas biológicas, contribuindo para o aumento de doenças como diabetes, câncer ou doenças neurodegenerativas (Machado Luciana e Kohayagawa Aguemí, 2009). O sistema de defesa antioxidante tem como função inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação dos radicais livres. Desta forma, a capacidade antioxidante dos componentes presentes na Cannabis, como os canabinoides, terpenos e flavonoides, possuem potencial para o tratamento de doenças (Gallegos M, 2015; Pellati *et al.*, 2018).

Tendo como base as características e resultados do uso de Cannabis medicinal, muitas associações têm se formado com o objetivo de promover um acesso seguro à Cannabis. A APEPI (Associação de Apoio à Pesquisa e Pacientes de Cannabis Medicinal) foi fundada em 2014, por Margarete Brito e o Marcos Lins Langenbach, que decidiram investir na pesquisa do produto ao descobrirem que a Cannabis poderia ser um remédio para o controle das convulsões de sua filha. Atualmente, a associação fornece 4 variedades de óleos de Cannabis com variados níveis de THC, CBD e CBG (Canabigerol), todos diluídos em azeite de oliva (APEPI-a, 2024).

Apesar de estudos acerca das propriedades antioxidantes dos componentes isolados da Cannabis, como o CBD e THC, existem poucas pesquisas envolvendo a determinação da atividade antioxidante dos óleos considerados *full spectrum*, que apresentam além dos canabinoides, outros compostos como terpenos, flavonoides, etc. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade antioxidante de óleos comerciais *full spectrum* produzidos pela APEPI, a partir de dois métodos diferentes, a fim de fornecer mais informações do perfil dos compostos dos óleos à base de Cannabis.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

O presente trabalho tem como principal objetivo avaliar e determinar as propriedades antioxidantes de extratos e óleos terapêuticos à base de *Cannabis sativa*, verificando o potencial antioxidante dos óleos de diferentes quimiotipos de Cannabis, a partir de dois métodos espectrofotométricos diferentes. Além de analisar e comparar a influência de diferentes diluentes na capacidade antioxidante dos óleos, a fim de averiguar como um todo as propriedades benéficas dos óleos de Cannabis para o tratamento de doenças.

2.2. Objetivos Específicos

- Otimizar os métodos analíticos baseado no DPPH e ABTS para determinar a capacidade antioxidante;
- Avaliar a atividade antioxidante das amostras de óleos por meio da espectrofotometria UV-VIS;
- Comparar os resultados de capacidade antioxidante dos extratos sob a influência de diferentes diluentes.

3. REVISÃO TEÓRICA

3.1. Origem da *Cannabis sativa*

A *Cannabis sativa* (Figura 1), popularmente conhecida como maconha ou cânhamo, é uma planta herbácea dioica da família das Canabiáceas (Cannabaceae), tendo origem na Ásia Central, podendo crescer tanto em climas tropicais quanto temperados (Kopustinskiene et al., 2022). Desde sua descoberta esta planta tem sido utilizada de diversas formas, como fonte para a produção de óleos alimentícios, fibras (cordas, tecidos e papel), uso medicinal, bem como, religioso e recreativo, sendo considerada uma das plantas psicotrópicas mais antigas (Bem Amar, 2006; Kopustinskiene et al., 2022; Li H, 1974). Além disso, a *Cannabis sativa* é uma planta que contém inúmeros compostos quimicamente ativos, como os canabinoides, flavonoides e terpenos, os quais possuem diversos benefícios para a saúde.

Figura 1. *Cannabis sativa* L. (a) aspecto planta; (b) inflorescência; (c) semente; (d) folha; (e) caule



Fonte: (Hourfane *et al.*, 2023)

Historicamente, o primeiro uso documentado da *Cannabis* de forma medicinal foi com o imperador da China, Shen Nung, o qual descreveu as propriedades e usos terapêuticos em 2737 A.C, sendo este conhecimento disseminado para a Índia. No Egito, a primeira utilização medicinal atestada da *Cannabis* foi para o tratamento de doenças oculares em 1150 A.C. Em 1839, o médico e cirurgião irlandês, William O’Shaughnessy, que vivia na Índia descobriu as propriedades analgésicas, antieméticas, anticonvulsivantes, estimulantes de apetite e relaxantes musculares da *Cannabis* (Xie *et al.*, 2023). Em 1854, a *Cannabis* foi listada no Dispensário dos Estados Unidos da América, e começou a ser vendida livremente nas farmácias ocidentais.

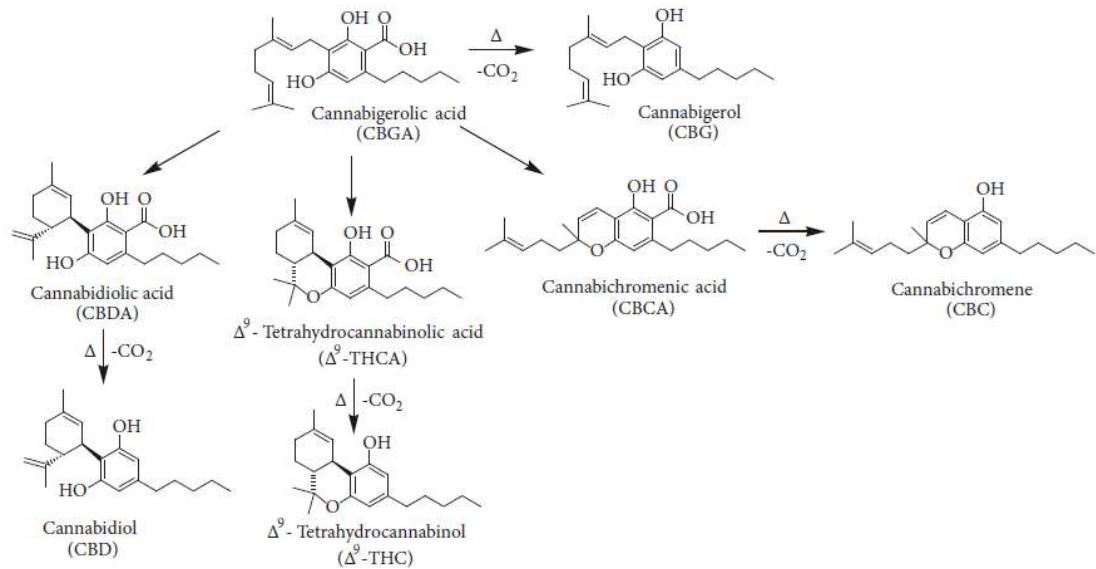
Entretanto, diversos países condenaram o uso da planta, responsabilizando-a por deterioração moral e intelectual, violência e insanidade, devido a suas propriedades psicoativas. Todavia, atualmente alguns países liberaram as restrições para o uso de Cannabis, visando o benefício econômico e medicinal, de diminuição de violência, bem como para o desenvolvimento de pesquisas. Um exemplo foi o Uruguai que foi o primeiro país a legalizar a Cannabis em 2013, Canadá em 2018, Malta em 2021 e a Tailândia em 2022, mas além desses existem outros países que legalizaram o uso medicinal com certas regulamentações, como: Alemanha, Austrália, Itália, Holanda, Colômbia e Brasil.

3.2 Composição

A composição da *Cannabis sativa* é bastante complexa, contendo mais de 538 componentes químicos conhecidos, dentre os quais cerca de 100 são classificados como fito canabinoides, que possuem uma estrutura lipídica com alquilresorcinol e monoterpênicos em sua molécula e podem ser classificados como canabinoides neutros (sem grupo carboxila) ou ácidos (com a presença de grupo carboxila). Ademais, a *Cannabis sativa* inclui outras substâncias como terpenos, flavonoides e alcaloides (Bonini *et al.*, 2018; Cásedas *et al.*, 2022; Kopustinskiene *et al.*, 2022).

Os canabinoides estão presentes na planta em sua forma ácida, como o ácido canabigerólico (CBGA), ácido tetrahydrocannabinólico (THCA) e ácido canabidiólico (CBDA), que são os precursores das formas neutras, CBG, THC e CBD, respectivamente, as quais possuem propriedades terapêuticas e medicinais (Brighenti *et al.*, 2017). Para serem convertidos na forma neutra, os canabinoides ácidos passam por um processo de descarboxilação por meio de aquecimento, o qual pode também ocorrer naturalmente devido a fatores ambientais como luz e temperatura (Backer, De *et al.*, 2009; Pellati *et al.*, 2018). O processo se baseia em uma reação química em que o grupo carboxila (-COOH) é removido da molécula de canabinoide ácido na forma de dióxido de carbono (CO₂), gerando sua forma neutra (Figura 2).

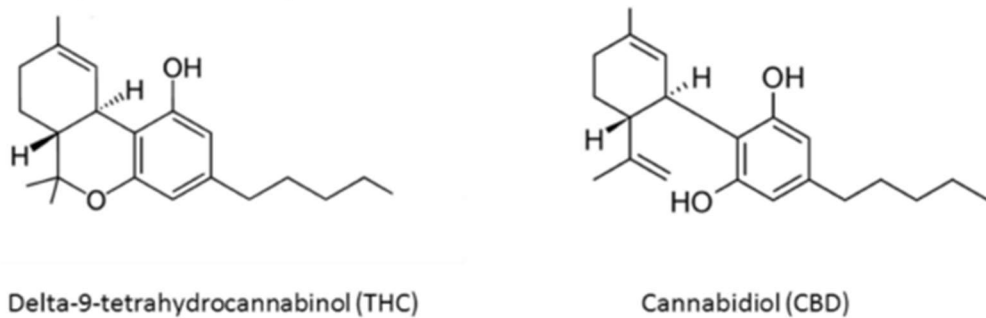
Figura 2. Reação de descarboxilação dos canabinoides ácidos



Fonte: (Pellati *et al.*, 2018)

Os compostos ativos majoritários que estão presentes na Cannabis são o canabinoide psicoativo Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) e o canabinoide não psicoativo, canabidiol (CBD), as quais possuem estruturas químicas semelhantes (Figura 3). O THC, assim como todos os canabinoides, é encontrado nas inflorescências femininas da Cannabis e possui uma grande afinidade com dois receptores canabinoides: o CB1, que é um modulador de efeitos psicoativos e o CB2, que é um modulador de efeitos imunológicos e anti-inflamatório, conseguindo ativá-los para provocar uma resposta biológica. Desta forma, o THC possui diversas ações farmacológicas, como analgésico, anti-inflamatório, antioxidante, relaxante muscular e antiespasmódico. Entretanto, devido às propriedades psicotrópicas, também pode provocar efeitos como paranoia, ansiedade, alterações de humor e deficiências cognitivas (Bonini *et al.*, 2018; Vučkovic *et al.*, 2018).

Figura 3. Estruturas químicas do tetrahydrocannabinol (THC) e do canabidiol (CBD)

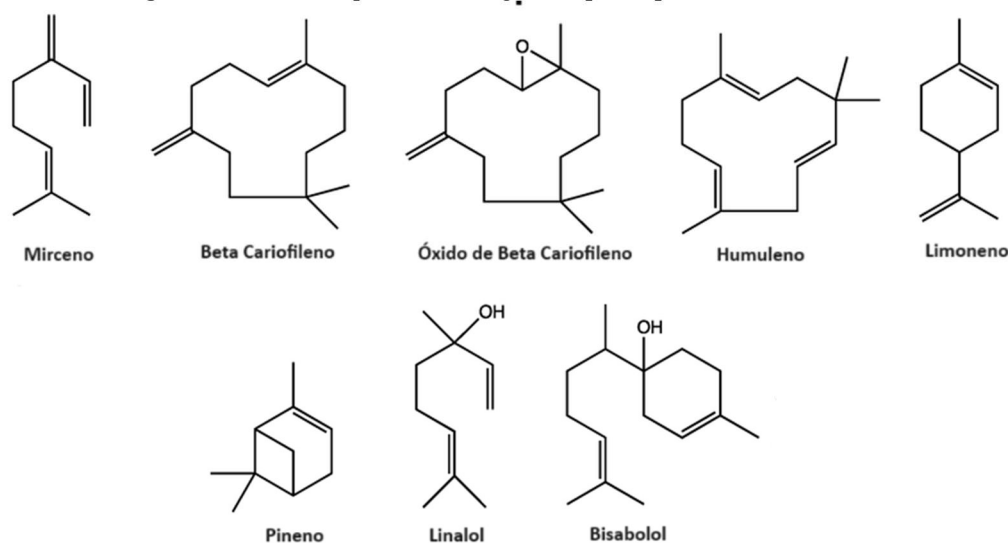


Fonte:(Kopustinskiene *et al.*, 2022)

O CBD é um canabinoide natural não psicotrópico que possui uma baixa afinidade com os receptores CB1 e CB2, entretanto, consegue inibir os efeitos destes na presença do THC. Desta forma, o CBD consegue reduzir a eficácia e potência do receptor CB1, reduzindo os efeitos psicoativos e outros sintomas adversos do THC (Bhunja *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2021; Vučkovic *et al.*, 2018). O canabidiol contém muitas propriedades medicinais, como antibacteriano, comportamento neuroprotetor, atividade antioxidante, anti-inflamatório, antiepiléptica e anticonvulsivante (Reis, Panoeiro, 2022), sendo utilizado em tratamentos para síndromes, como a Dravet e Lennox-Gastaut. possuindo diversos estudos de seus benefícios para o tratamento de doenças de Alzheimer e Parkinson, bem como o auxílio no tratamento de câncer (Tura, Mandrioli e Toschi, 2019). Outros canabinoides também podem estar presentes, como o canabicromeno (CBC) e canabigerol (CBG), os quais não são psicoativos, mas possuem diversas propriedades terapêuticas e medicinais devido às suas interações com os receptores do sistema imunológico, contendo efeitos anti-inflamatórios e antimicrobianos (Izzo *et al.*, 2012; Jastrzab *et al.*, 2022; Pattnaik *et al.*, 2022).

Além da presença de canabinoides, a Cannabis possui terpenos, os quais correspondem a cerca de 3-5% da massa seca das inflorescências. Os terpenos possuem grande potencial medicinal e terapêutico, contendo ações anti-inflamatórias, atividade antioxidante, antimicrobiana e antidiabética. Além de contribuir bioativamente contra condições de saúde infecciosas e crônicas, os terpenos também atribuem aromas herbáceos e promovem os sabores característicos da planta. Os terpenos que normalmente estão presentes na Cannabis, são: mirceno, limoneno, pineno, cariofileno, humuleno, linalol e bisabolol (Figura 4) e suas presenças trazem uma maior complexidade e potencial de atividade biológica para a Cannabis (Bonini *et al.*, 2018; Chacon *et al.*, 2022; Stasiłowicz-Krzemień *et al.*, 2023).

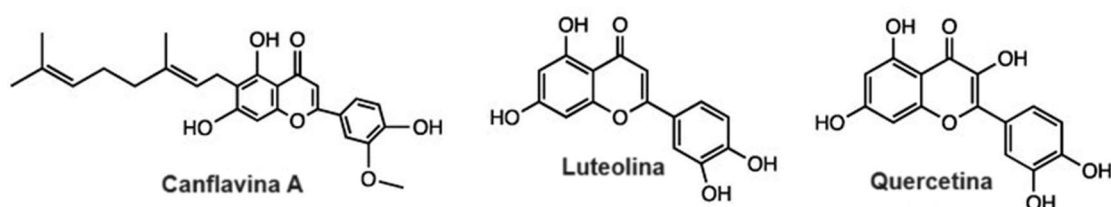
Figura 4. Estruturas químicas de alguns terpenos presentes na Cannabis



Fonte: (Tomko et al., 2020)

Os flavonoides compõem um grupo de metabólitos da classe dos polifenóis, apresentando capacidade antioxidante, as quais trazem ações potenciais à saúde. Dentre os flavonoides presentes na Cannabis, destacam-se: a canflavina A, a qual auxilia no tratamento da dor e inflamação; a luteolina e a quercitina (Figura 5), as quais possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatória e neuroprotetoras (Stasiłowicz-Krzemień *et al.*, 2023).

Figura 5. Estruturas químicas de alguns flavonoides presentes na Cannabis



Fonte: (Tomko *et al.*, 2020)

3.3. Efeito Entourage

O efeito *entourage* é um fenômeno que descreve uma interação sinérgica entre alguns componentes da Cannabis, principalmente entre os próprios canabinoides e também com terpenos, e que proporciona melhores resultados terapêuticos do que quando são utilizados de maneira isolada (Russo, 2019). O efeito *entourage* pode ser dividido em duas formas: o intra-entourage, que se refere ao aumento da atividade biológica devido às interações sinérgicas entre os fitocannabinoides ou entre os terpenos, e o inter-entourage, que relaciona o aumento da atividade biológica com as interações entre canabinoides e terpenos (Koltai e Namdar, 2020).

Diferentes estudos demonstram a existência do efeito *entourage*, o qual pode influenciar significativamente a eficácia terapêutica. Por exemplo, ao comparar um extrato de Cannabis com alto teor de CBD com o CBD puro, observou-se que o extrato possui um efeito anti-inflamatório mais eficaz na redução de inflamações gastrointestinais em ratos do que a forma isolada de CBD (Pagano *et al.*, 2016). Além disso, no tratamento do câncer de mama, o extrato de Cannabis apresentou efeitos antitumorais mais potentes do que o THC isolado, devido à presença de diferentes componentes, como canabigerol (CBG) e ácido tetraidrocanabinólico (THCA), no extrato, favorecendo interações sinérgicas entre eles (Blasco-Benito *et al.*, 2018). No caso do câncer colorretal, foi possível identificar uma redução no progresso do tumor devido ao uso de diferentes canabinoides combinados com terpenos, o que não foi identificado quando cada componente foi aplicado separadamente, demonstrando a ação da interação sinérgica (Nalathambi *et al.*, 2018). Ademais, verificou-se que quando combinados, os fitocannabinoides, como THC ou CBD, com seus terpenóides relacionados, mostraram um aumento da atividade biológica e maior eficácia em induzir a morte células cancerígenas (Namdar *et al.*, 2019). Desta forma, é de extrema importância a avaliação da planta como um todo, uma vez que seus efeitos terapêuticos são potencializados com as interações sinérgicas entre os compostos.

3.4. Produção e Consumo dos óleos à base de Cannabis

A produção de óleos de Cannabis para fins medicinais passa por diferentes etapas, nas quais se destacam a extração e o isolamento ou balanceamento de canabinoides da planta. A forma tradicional de serem preparados é utilizando instrumentos simples e poucos reagentes. Ele se inicia com o cultivo da Cannabis, a qual após seu estágio de floração, colhem-se as inflorescências, sendo aparadas para retirada das folhas. A próxima etapa é a de secagem, entretanto, ela varia de acordo com o tipo de extração selecionado, visto que existem métodos de extrações onde se realiza a secagem a frio depois da extração (Lazarjani *et al.*, 2021). A secagem pode ser realizada através de uma câmara a vácuo ou estufa de secagem, pela suspensão das flores ou por um liofilizador, caracterizando uma secagem à baixa pressão e temperatura (Russo, Plumb e Whiteley, 2021). A secagem, além de conseguir proporcionar a redução de água na composição das plantas, pode minimizar o crescimento de microrganismos e preservar a qualidade da flor, mantendo a potência, aroma e propriedades medicinais, a depender de

fatores, como a temperatura, velocidade do ar de secagem e o tipo de secador. (Lazarjani *et al.*, 2021).

A terceira etapa é a extração, a qual tem o objetivo de extrair os componentes presentes na Cannabis. Ela pode ser feita por meio de diferentes técnicas e solventes, como: metanol, etanol, éter dietílico, dióxido de carbono (CO₂) supercrítico, ultrasonicação, micro-ondas, óleos comestíveis, dentre outras (Mazzara *et al.*, 2022; Romano e Hazekamp, 2013). Durante a extração, ainda pode-se conter impurezas, a depender do tipo de extração. Desta forma é necessário a realização de uma filtração e evaporação de solventes utilizados. Ademais, o extrato é descarboxilado, sendo aquecido a altas temperaturas para a conversão dos canabinoides ácidos em neutros. Por fim, o extrato concentrado obtido é formulado e diluído em um diluente para obtenção do óleo medicinal (Romano e Hazekamp, 2013).

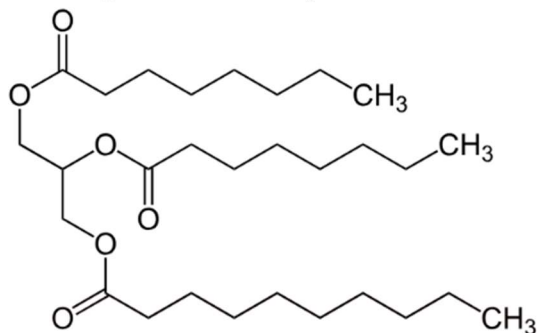
Nas associações, a maioria das etapas são realizadas de forma manual, visto que possuem baixo investimento financeiro, com equipamentos simples e produção realizada em batelada, o que acaba aumentando o tempo do processo. Entretanto, possuem um grande cuidado desde o cultivo da planta. Na APEPI, as flores são secas em uma estufa de secagem, com temperatura e umidade controladas, trituradas ou despedaçadas, e colocadas em contato com álcool de cereais para a extração. A extração, em sua maioria, é realizada por meio da maceração dinâmica, através de uma agitação magnética, filtração do extrato e evaporação do solvente, que pode ser por um rotoevaporador ou em uma chapa de aquecimento. Após a obtenção do extrato, ocorre o processo de descarboxilação, que pode ser realizado através de uma câmara de secagem/aquecimento com circulação forçada de ar em um frasco vedado a 115°C por 150 minutos, sendo que a forma de descarboxilação varia de acordo com cada associação. Após descarboxilado, o extrato é misturado com um diluente, normalmente azeite de oliva extravirgem, em uma determinada concentração e enviados para o teste de qualidade. Por fim, quando aprovados, os óleos terapêuticos à base de Cannabis são embalados e rotulados, estando disponíveis para distribuição e venda.

3.5. Tipos de diluentes dos extratos de Cannabis

Os extratos de Cannabis podem ser diluídos em diferentes tipos de diluentes, sendo o TCM (triglicerídeos de cadeia média) mais empregado nos produtos importados. Outros diluentes utilizados são o azeite de oliva, óleo de coco, de girassol ou de gergelim. O TCM (Figura 6) são lipídeos extraídos do óleo de coco através de hidrólise enzimática e possuem alta

facilidade de absorção e oxidação pelo corpo humano, sendo uma eficiente fonte de energia. Devido a esta característica, são normalmente utilizadas por atletas para suplementação alimentar, ou para tratamento de doenças, como distúrbios gastrointestinais, reduzindo gordura mal absorvida (Ramella et al., 2020; Yamanaka e Bonotto, 2011).

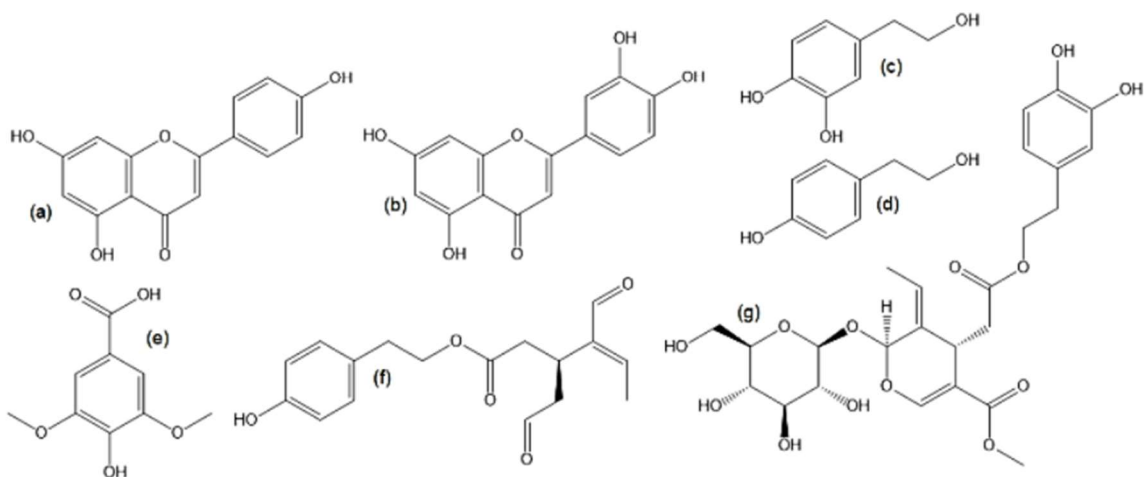
Figura 6. Estrutura típica do TCM



Fonte: Arquivo pessoal

O azeite de oliva é usualmente utilizado para a diluição dos extratos de Cannabis, principalmente na preparação artesanal, por ter um forte potencial nutricional, sendo rico em ácidos graxos poli-insaturados, polifenóis e antioxidantes naturais (Figura 7), os quais atribuem diversos benefícios à saúde, como prevenção de doenças cardiovasculares, degenerativas e inflamações (Fuentes *et al.*, 2018).

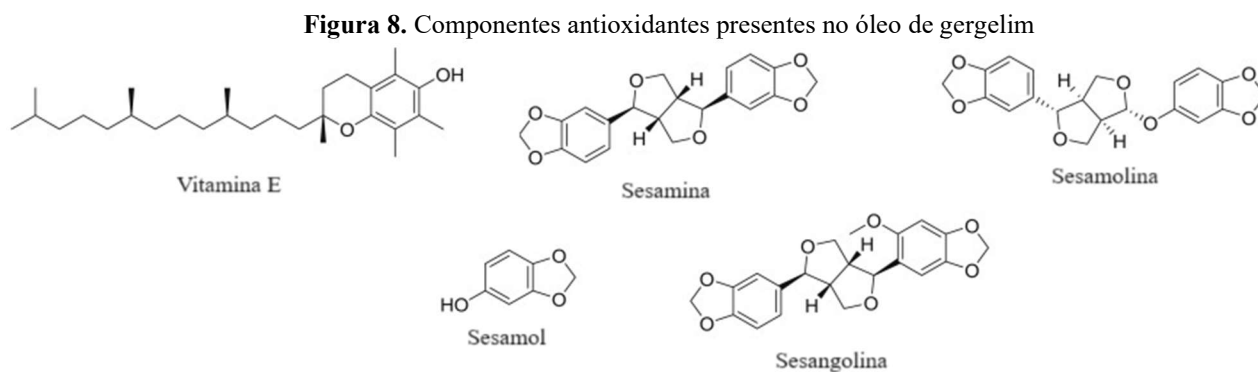
Figura 7. Estrutura de compostos fenólicos presentes no azeite. (a) Apigenina; (b) Luteolina; (c) Hidroxitirosol; (d) Tirosol; (e) Ácido Siringico; (f) Oleocantal; (g) Oleuropeína



Fonte:(Oliveira e Dias, 2023)

Outro diluente que vem sendo estudado é o óleo de gergelim que é composto por ácidos graxos de cadeia longa saturados e insaturados (oleico e linoleico), os quais são conhecidos por

aumentar a biodisponibilidade. Além disso, o óleo de gergelim contém componentes antioxidantes (sesamol e sesamina) e tocoferóis (Figura 8), que proporcionam uma maior estabilidade oxidativa, podendo contribuir para o desempenho dos extratos de Cannabis (Orallo *et al.*, 2024).



Fonte: (Pal, Chandra e Sachan, 2020)

A seleção do diluente do extrato de Cannabis geralmente leva em consideração o custo, tempo de validade e características sensoriais, sendo o azeite de oliva extra virgem o mais utilizado em pequenas Associações.

3.6. Legislação

A regulamentação acerca do uso da Cannabis medicinal no Brasil foi realizada em 2015 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a qual incluiu o CBD na lista de substâncias sujeitas a controle especial, possibilitando a prescrição com receita, e a autorização de importação de produtos à base de Cannabis para fins medicinais de uso próprio. A partir desta regulamentação foi registrado o medicamento Mevatyl, que é indicado como tratamento para melhoria dos sintomas de pacientes com espasticidade moderada à grave devido à esclerose múltipla (EM) (Machado e Diretor, 2023). Em 2019, a ANVISA estabeleceu regras para concessão de autorização sanitária para a produção e comercialização de produtos derivados de Cannabis no Brasil. Em 2022, ela permitiu que pessoas físicas solicitassem uma autorização, válida por dois anos, para importar produtos derivados de Cannabis (Riscala e Cardoso, 2023).

No ano de 2023 foram apresentados, tanto na Câmara dos Deputados quanto no Senado, Projetos de Lei que visam regulamentar o fornecimento de derivados de Cannabis pelo SUS. Neste mesmo ano, a ANVISA emitiu uma Nota Técnica, na qual proíbe a importação de produtos compostos pela planta de Cannabis in natura ou partes da planta (ANVISA, 2023). E em junho de 2024, o Supremo Tribunal Federal (STF) decidiu descriminalizar o porte de maconha

para uso pessoal, deixando de prever a pena de prisão, mas sendo caracterizado como infração administrativa, sem consequências penais (Supremo Tribunal Federal (STF), 2024).

3.7. Associações produtoras de óleos a base de cannabis

No Brasil, a aquisição de produtos de Cannabis medicinal pode ser feita por três vias diferentes, sendo elas a importação, a aquisição nacional por empresas autorizadas ou por meio de associações. Dentre elas, as associações são as que oferecem maior facilidade de obtenção dos óleos e diversidade na área de profissionais da saúde aptos a prescreverem, visto que não estão restritas pelas atuais regulamentações, já que cada associação segue o que foi determinado na sua decisão judicial, além de ter um custo economicamente viável e uma produção segura (Riscala e Cardoso, 2023).

A APEPI (Apoio à Pesquisa e Pacientes de Cannabis Medicinal) é uma associação brasileira de pacientes e familiares que fazem uso medicinal da Cannabis, com sede no estado do Rio de Janeiro e fundada em 2014 pela advogada Margarete Brito e o designer Marcos Lins Langenbach. Essa associação tem como missão facilitar o acesso ao uso medicinal de óleos à base de canabinoides, apoiar a pesquisa e oferecer informações e educação para desmistificar e conscientizar a sociedade sobre os benefícios dessa planta. A associação produz óleos terapêuticos ricos em CBD, CBG, THC ou balanceado tendo como veículo de diluição o azeite extra virgem e a extração de forma alcóolica (APEPI-a, 2024). Esses óleos são produzidos por quimiotipos da *Cannabis sativa*, que eles cultivam e processam, conferindo uma padronização de canabinoides e outras substâncias com propriedades medicinais. Cada óleo recebe o nome do seu quimiotipo respectivo, os quais são gerados pelo cruzamento híbrido de diferentes variações da Cannabis e proporcionam aspectos individuais à planta.

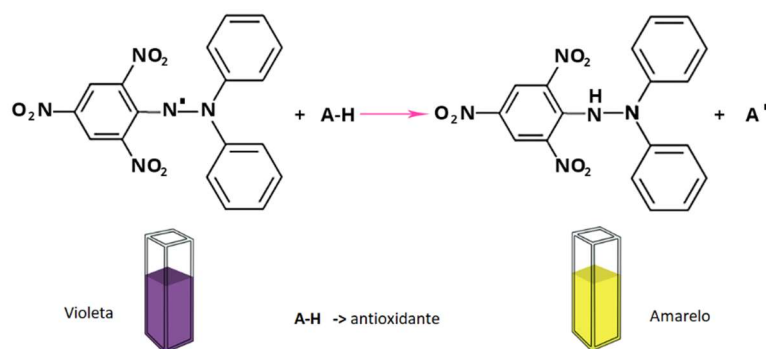
3.8. Capacidade Antioxidante

3.8.1. Baseado no método DPPH

O DPPH é a abreviação do composto químico 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, o qual é uma molécula de radical livre estável devido a deslocalização do elétron desemparelhado pela sua estrutura. O DPPH está disponível na forma de um pó cristalino de intensa coloração violeta, a qual se mostra mais evidente em solução, e é caracterizada por um pico máximo de absorção entre 515 e 520 nm. Devido à suas características, é um método amplamente utilizado para medição de atividade antioxidante.

O método é baseado na capacidade antioxidante (CA) de um composto em capturar o radical DPPH, reduzindo-o, podendo ocorrer a partir de dois mecanismos: pela reação de transferência de átomo de hidrogênio (HAT) ou pela transferência de elétron único (ET) (Shahidi e Zhong, 2015). Com o consumo deste radical ocorre a descoloração, da solução violeta para um tom amarelo pálido (DPPH-H), o que indica a formação do produto reacional (Figura 9). Desta forma, na presença de componentes que possuam átomos de hidrogênio disponíveis para doação, ocorre a transferência de um hidrogênio para o DPPH•. Essa medição pode ser realizada por meio de um espectrofotômetro UV-Vis, verificando a diminuição da absorbância do radical DPPH, no comprimento de onda máximo (517 nm), após o equilíbrio da reação ser atingido (Apak *et al.*, 2016; Shahidi e Zhong, 2015).

Figura 9. Mecanismo de reação do DPPH para determinação da capacidade antioxidante



Fonte: (MILLARD)

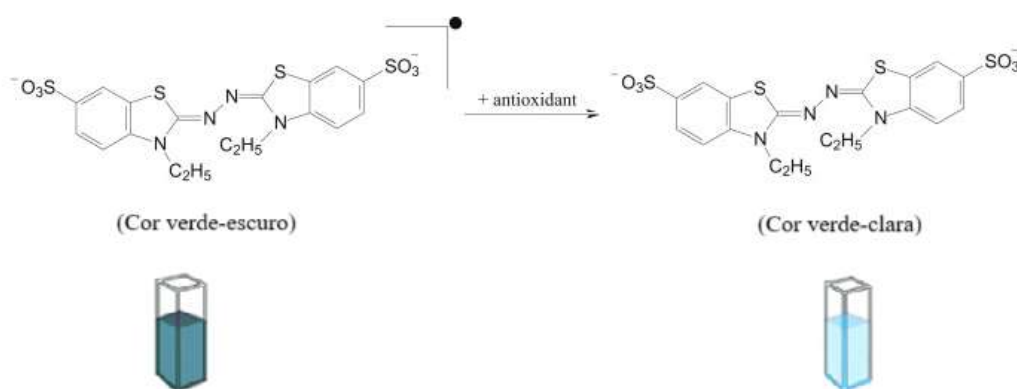
Estudos mostraram que, ao analisar extratos puros de CBD e THC com o método DPPH, o CBD isolado possui uma atividade antioxidante maior que o THC isolado, visto que o CBD possui dois grupos hidroxila (Hacke *et al.*, 2019). Além disso, ao comparar os extratos de Cannabis com diferentes proporções de CBD e THC, notou-se que o efeito antioxidante foi aumentado, em comparação com o THC isolado, estando relacionado com efeitos sinérgicos entre os canabinoides que potencializam a captura do radical DPPH (Hacke *et al.*, 2019). Verificando também o canabinoide CBD isolado e combinado com a ciclodextrina, a qual proporciona maior solubilidade, observou-se uma capacidade antioxidante em cerca de 88% para ambos compostos, em 30 minutos de reação (Li *et al.*, 2021). Ademais, ao mapear e avaliar a atividade antioxidante das etapas de cultivo da Cannabis, pode-se identificar, a partir do DPPH, que a fase da plantação que proporciona nos extratos uma maior taxa de propriedades antioxidantes e de presença de compostos mais ricos em bioativos compostos, é durante o período de floração, visto que as flores possuem a maior taxa de canabinoides (Shahu *et al.*, 2022).

3.8.2. Baseado no método ABTS

O ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico), comumente abreviado para ABTS, é um composto químico muito utilizado para a medição de capacidade antioxidante, possuindo ótimas propriedades físico-químicas, como a sua alta solubilidade e estabilidade em água (Cano e Arnao, 2018). Este composto possui uma cor levemente esverdeada e ao reagir com o persulfato de potássio (K_2SO_5) produz o radical ($ABTS^{\bullet+}$), o qual possui uma coloração azul-esverdeada intensa, é estável e contém uma absorvância máxima entre 734 e 754 nm, a depender do solvente utilizado. A variação no comprimento de onda está associada a alteração da estrutura química e eletrônica da substância devido à solvatação com diferentes tipos de solvente.

A reação para a produção do radical ($ABTS^{\bullet+}$) é lenta, levando cerca de 16 horas, mas apesar dessa limitação, ainda é um método amplamente utilizado. O mecanismo para a verificação da capacidade antioxidante (CA) neste método pode ser baseado de duas formas: pela neutralização do $ABTS^{\bullet+}$ por redução via doação de elétrons ou por doação de átomos de hidrogênio (Shahidi e Zhong, 2015). Desta forma, na presença de moléculas antioxidantes, as quais possuem átomos de hidrogênio disponíveis, ocorre a doação de um hidrogênio para o $ABTS^{\bullet+}$, formando o ABTS, sofrendo descoloração da solução (Figura 10). A reação pode ser monitorada através de um espectrofotômetro observando a diminuição da absorvância no comprimento de onda (734-754 nm)(Re *et al.*, 1999; Shahidi e Zhong, 2015).

Figura 10. Reação de estabilização do $ABTS^{\bullet+}$ em contato com antioxidante



Fonte: (Do *et al.*, 2007)

Ao verificar trabalhos que utilizaram o método ABTS para avaliar a capacidade antioxidante de extratos de Cannabis, CBD e THC puro, observou-se que os canabinoides CBD e THC mostraram alta atividade antioxidante. No entanto, para os extratos, houveram variações

no poder antioxidante, aumentando ou diminuindo a depender da proporção de CBD e THC, o que indica efeitos sinérgicos ou antagônicos entre os canabinoides (Hacke *et al.*, 2019). Ao verificar a atividade antioxidante de óleos naturais de CBD, THC, CBG e de seus respectivos canabinoides ácidos, medida pelo método ABTS, obteve-se um valor, aproximadamente, três vezes maior que dos canabinoides puros diluídos em óleo vegetal (Dawidowicz, Typek e Olszowy-Tomczyk, 2023). Este alto valor de CA ocorre devido a matriz complexa da planta, que contém diversos componentes antioxidantes que atuam de forma sinérgica. Além disso, ao comparar o CBD isolado, o CBD combinado com a ciclodextrina e a vitamina C, observou-se que o CBD fortificado com a ciclodextrina obteve melhores resultados de CA pelo método ABTS do que a própria vitamina C, a qual é utilizada como referência de propriedades antioxidantes, confirmando a presença de interações sinérgicas que potencializam o efeito antioxidante (Li *et al.*, 2021).

Além disso, as relações entre as atividades antioxidantes de diferentes canabinoides, quando analisadas pelo método DPPH, podem ser menos claras do que aquelas obtidas em outros métodos, como o método ABTS, visto que o acesso ao centro ativo do radical DPPH é mais difícil em comparação com o radical catiônico ABTS (Dawidowicz, Olszowy-Tomczyk e Typek, 2021).

Desta forma, diante do que foi exposto, se torna altamente relevante o estudo da atividade antioxidante dos óleos à base de Cannabis, devido à complexidade dos compostos presentes (canabinoides, terpenos, flavonoides, entre outros), além de suas interações sinérgicas e dos benefícios terapêuticos e medicinais que fornecem.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Reagentes

- Água purificada por osmose reversa
- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) - P.A. ($C_{18}H_{12}N_5O_6$)
- Acetato de etila P.A. - A.C.S. ($CH_3COOCH_2CH_3$)

- ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) - P.A. (C₁₈H₂₄N₆O₆S₄)
- Persulfato de Potássio - P.A. (K₂S₂O₈)
- Álcool Anidro - Grau HPLC (CH₃CH₂OH)
- Ácido Ascórbico - P.A.-A.C.S. (C₆H₈O₆)
- Metanol P.A. (CH₃OH)
- Etanol P.A. (CH₃CH₂OH)

4.2. Materiais

- Cubeta de quartzo (1 cm de caminho óptico)
- Balões volumétricos de 5, 10, 25, 100 mL
- Béqueres
- Tubos de ensaio com tampas
- Frascos âmbar
- Micropipetas
- Pipetas Pasteur
- Espátula

4.3. Equipamentos

- Balanças analíticas (Mettler Toledo XS205 DualRange e Shimadzu AX200)
- Espectrofotômetro UV-Vis (Agilent Cary 8454 e Ocean Optics USB 2000)
- Agitador Vórtex (Kasvi basic K45-2820)
- Lavadora ultrassônica (Eco-Sonics Q3)

4.4. Amostras

Para a realização do trabalho foram utilizadas 3 amostras de óleos terapêuticos de Cannabis (frascos de 30 mL) (Figura 11) e 2 extratos concentrados de diferentes quimiotipos

fornecidos pela APEPI, sendo os óleos: o *Purple Wreck* (alto THC comparado aos demais), *Schanti* (CBD e THC balanceado) e *Harle Tsu* (alto CBD) e os extratos: Purple Wreck e Schanti (Tabela 1 e 2). Além disso, foram utilizados para a análise de diluentes o azeite de oliva extravirgem (AOEV) da Alva Oliva (mesmo diluente dos óleos da APEPI), óleo vegetal extravirgem de gergelim prensado a frio e o óleo TCM (Triglicerídeos de Cadeia Média do óleo de coco C8 (60%) e C10 (40%)) (Figura 12).

Figura 11. Frascos das amostras de óleos da APEPI



Fonte: Arquivo pessoal

Tabela 1. Composição dos óleos terapêuticos a base de Cannabis da APEPI

Amostra (óleos)		Harle Tsu	Purple Wreck	Schanti
Concentração dos compostos (mg/mL)	CBDV	1,2	< 0,8	< 0,8
	CBD	36,4	< 0,8	12,7
	CBG	1,2	< 0,8	< 0,8
	Δ 9-THC	2,8	9,8	7,1
	CBC	1,4	< 0,8	< 0,8

Fonte: Laudo APEPI

Tabela 2. Amostras dos extratos medicinais de Cannabis da APEPI

Amostra (Extratos)	Purple Wreck	Schanti
CBDV	< 0,2	< 0,2

Concentração dos compostos (% m/m)	CBD	2,4	30,5
	CBG	2,1	1,4
	Δ 9-THC	44,4	19,9
	CBC	0,9	1,5

Fonte: Laudo APEPI

Figura 12. Embalagens do azeite de oliva, TCM e óleo de gergelim



Fonte: Arquivo pessoal

4.5. Preparo de amostra e soluções

4.5.1. Preparo das amostras

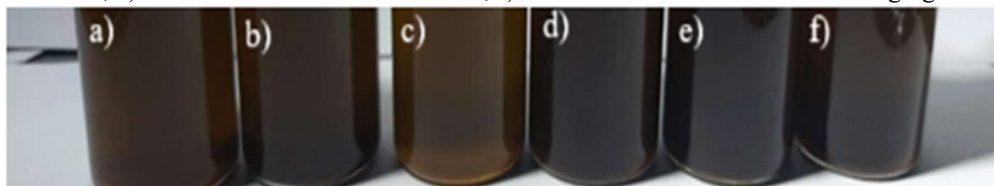
Para os métodos ABTS e DPPH não houve preparo de amostra para os óleos terapêuticos à base de Cannabis, entretanto, houve para as amostras a partir dos extratos. Foram preparadas amostras através da diluição dos extratos da APEPI, *Schanti* e *Purple* (Tabela 2) em AOEV, óleo de TCM e óleo de gergelim (Figura 12), para analisar o impacto do diluente na capacidade antioxidante. Para isso, pesou-se aproximadamente 0,25 g de cada um dos extratos em frascos transparentes, e adicionou-se 10 mL de um dos diluentes, obtendo uma concentração final de 2,5 % (massa/volume). A homogeneização foi feita com o auxílio de vórtex e banho

ultrassônico e, após sua completa solubilização, cada frasco foi envolvido por um papel alumínio e armazenado no escuro para evitar oxidação (Tabela 3 e Figura 13).

Tabela 3. Composição dos óleos terapêuticos preparados a partir dos extratos da APEPI

Extratos	Massa (g)	Diluyente (10 mL)	Relação massa/volume (%)
Schanti	0,2412	AOEV	2,41
	0,2556	TCM	2,56
	0,2512	Gergelim	2,51
Purple	0,2421	AOEV	2,42
	0,2433	TCM	2,43
	0,2505	Gergelim	2,5

Figura 13. Disposição dos óleos preparados a partir dos extratos da APEPI. a) Extrato Purple diluído em AOEV; b) Extrato Purple diluído em TCM; c) Extrato Purple diluído em óleo de gergelim; d) Extrato Shanti diluído em AOEV; e) Extrato Shanti diluído em TCM; f) Extrato Shanti diluído em óleo de gergelim



Fonte: Arquivo pessoal.

4.5.2. Solução de DPPH $9,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em acetato de etila

Pesou-se 3,6869 mg de DPPH, que foi dissolvido em acetato de etila em um balão volumétrico de 100 mL. Transferiu-se esta solução para um frasco de vidro âmbar, devidamente etiquetado, e armazenou-se sob refrigeração.

4.5.3. Solução Estoque de ABTS $7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$

Pesou-se 96,019 mg de ABTS, que foi dissolvido em água purificada por osmose reversa em um balão volumétrico de 25 mL. Transferiu-se esta solução para um frasco de vidro âmbar, devidamente etiquetado, e armazenou-se sob refrigeração (Solução válida por 30 dias).

4.5.4. Solução de persulfato de potássio $1,40 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$

Pesou-se 0,3784 g de persulfato de potássio, que foi dissolvido em água purificada por osmose reversa em um balão volumétrico de 10 mL. Transferiu-se esta solução para um frasco

de vidro âmbar, devidamente etiquetado, e armazenou-se em temperatura ambiente (Solução válida por 30 dias).

4.5.5. Solução do radical ABTS^{•+} em álcool anidro

Em um frasco âmbar, pipetou-se 5 mL da solução estoque de ABTS $7 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e 88 μL da solução de persulfato de potássio $1,40 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando micropipetas. Homogeneizou-se a mistura e armazenou-se o frasco vedado no escuro, em temperatura ambiente, por cerca de 16 h. Após este período, diluiu-se a mistura em álcool anidro até obter uma absorvância de $0,70 \pm 0,05$ a.u. no comprimento de onda de 754 nm, pico de maior absorvância da solução. A diluição foi realizada em um balão de 100 mL, no qual adicionou-se 1 mL da solução do radical ABTS^{•+} e completou-se com álcool anidro até atingir o menisco. Devido à instabilidade da solução ela foi preparada e utilizada apenas no dia da análise.

4.6. Métodos

4.6.1. Determinação da Capacidade Antioxidante pelo método DPPH

Adicionou-se 4 mL da solução de DPPH com uma micropipeta (1-10 mL) em um frasco de vidro âmbar. Utilizando uma micropipeta de 20 μL , pipetou-se ao frasco 4 gotas da amostra, onde cada gota equivale a massa média de $0,0126 \pm 0,0012$ g, e agitou-o manualmente por 10 s. Em seguida, armazenou-se o frasco com a amostra em um lugar escuro e esperou-se 1,5 h. No espectrofotômetro UV-Vis, mediu-se o branco (acetato de etila) e determinou-se a absorção da solução estoque de DPPH em 517 nm (pico de maior absorvância). Após o período de repouso de 1,5 h, determinou-se a absorção da amostra em 517 nm. Entre cada medida, lavou-se a cubeta de quartzo 2 vezes com acetato de etila e após a lavagem ambientou-se a cubeta antes da próxima medição. As medidas de cada amostra foram realizadas em triplicata. Para o cálculo da capacidade antioxidante utilizou-se a seguinte equação (Equação 1), sendo expressa em porcentagem.

$$\text{Capacidade Antioxidante (\%)} = \frac{(A_{DPPH} - (A_{Amostra} - A_{Branco}))}{A_{DPPH}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

A_{DPPH} = absorção da solução de DPPH

$A_{Amostra}$ = absorção da solução contendo amostra em DPPH

A_{Branco} = absorção da solução contendo amostra em acetato de etila

4.6.2. Capacidade Antioxidante - ABTS

Adicionou-se 4 mL da solução diluída de ABTS^{•+} com uma micropipeta (1-10 mL) em um tubo de vidro com tampa. Utilizando uma micropipeta de 20 µL adicionou-se ao tubo 1 gota da amostra, que possui a massa média de $0,0126 \pm 0,0012$ g, e agitou-o no vórtex por 30 s. Em seguida, o tubo ficou em repouso por 6 min em temperatura ambiente. No espectrofotômetro UV-Vis, mediu-se o branco (álcool anidro) e determinou-se a absorção da solução de ABTS^{•+} em 754 nm (pico de maior absorbância). Após os 6 min de repouso do tubo, determinou-se a absorção da amostra em 754 nm. Entre cada medida, lavou-se a cubeta de quartzo 2 vezes com álcool anidro, diminuindo o erro das medidas, e após a lavagem, ambientou-se a cubeta antes da próxima medição. As medidas de cada amostra foram realizadas em triplicata. Para o cálculo da capacidade antioxidante utilizou-se a seguinte equação (Equação 2), sendo expressa em porcentagem.

$$\text{Capacidade Antioxidante (\%)} = \frac{(A_{\text{ABTS}} - (A_{\text{Amostra}} - A_{\text{Branco}}))}{A_{\text{ABTS}}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

A_{DPPH} = absorção da solução de ABTS

A_{Amostra} = absorção da solução contendo amostra em ABTS

A_{Branco} = absorção da solução contendo amostra em álcool anidro

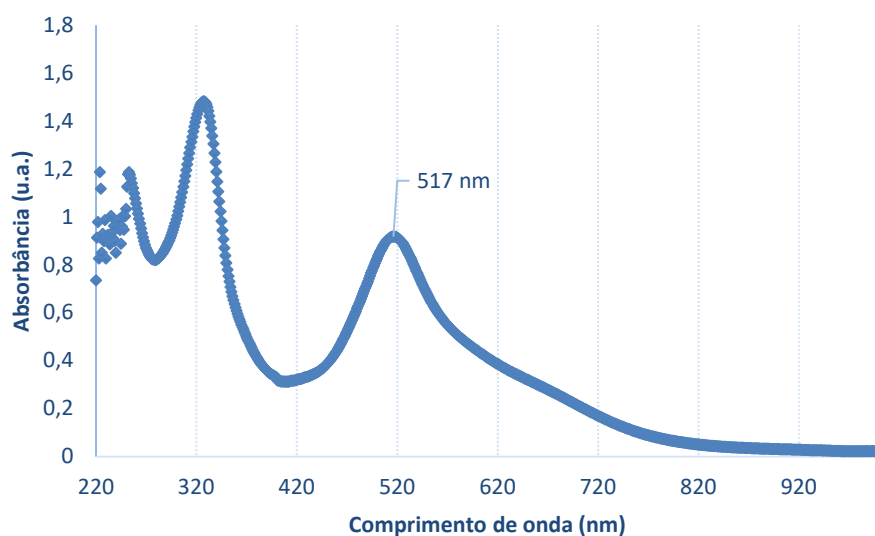
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Capacidade Antioxidante – DPPH

5.1.1. Estabilidade e precisão das medidas

Para averiguar o comprimento de onda de maior absorção do reagente, preparou-se uma solução de concentração $9,35 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de DPPH em acetato de etila, a qual foi lida no espectrofotômetro UV-Vis, utilizando o acetato de etila como branco, e constatou-se que o comprimento de absorção máxima foi de 517 nm (Figura 14). Desta forma, todas as medidas de absorbância foram realizadas neste comprimento de onda.

Figura 14. Espectro UV-Vis da solução de DPPH



Fonte: Arquivo Pessoal

Para verificar a repetibilidade das medidas, a solução de DPPH $9,35 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ foi lida por 20 vezes seguidas no espectrofotômetro UV-Vis em todos os dias de análise, antes da leitura das amostras, resultando, em média, um desvio padrão relativo de 0,34% e um desvio padrão de 0,0032. Tendo em vista os baixos valores de desvio que a solução de DPPH apresentou, determinou-se que as medidas feitas no equipamento são confiáveis.

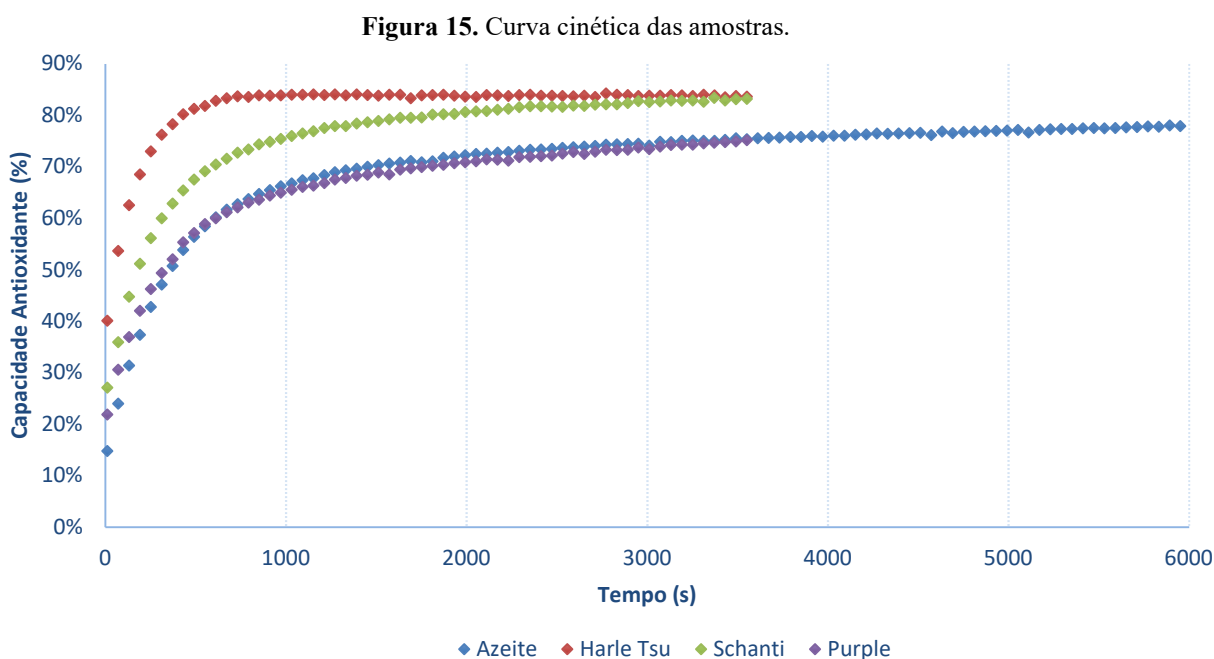
Por ser um reagente, a degradabilidade da solução de DPPH foi avaliada em função do tempo e repetibilidade na medida. A solução foi armazenada na geladeira por 7 dias, sendo analisada nos dias 0, 2 e 7, resultando em uma boa estabilidade ($0,8684 \pm 0,0069$), onde a absorbância diminuiu apenas 1,46% durante este período.

5.1.2. Estudo da cinética reacional do DPPH com os óleos terapêuticos

Foram analisados os três óleos terapêuticos fornecidos pela APEPI (*Harle Tsu*, *Purple* e *Schanti*), sendo cada um deles produzido com um quimiotipo de Cannabis diferente, e o AOEV (azeite de oliva extravirgem), utilizado como diluente, para comparação. A fim de verificar o tempo para o estabelecimento do equilíbrio da reação do DPPH com os óleos, visto que poucos artigos definem esse tempo para tais produtos, foi realizada uma curva cinética com quatro amostras, sendo elas: AOEV, *Harle Tsu*, *Purple* e *Schanti*. Colocou-se o espectrofotômetro no modo cinética configurado para realizar leituras com intervalos de 1 min, com agitação controlada de 500 rpm, por 7200 s (2 h). Após configurado, preparou-se a solução contendo

4 gotas da amostra de azeite e 4 mL da solução de DPPH $9,35 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ e colocou-a imediatamente no espectrofotômetro para a análise. O mesmo procedimento foi realizado com as amostras *Harle Tsu*, *Purple* e *Schanti*, entretanto para o tempo de 3600 s (1 h).

Ao comparar os resultados dos estudos cinéticos foi possível estabelecer o melhor tempo para deixar a solução reagir antes da medição, de forma que a atividade antioxidante não varie muito ao longo do tempo (Figura 15). Observa-se que, em menos de uma hora, a solução com o óleo *Harle Tsu* atinge o equilíbrio, enquanto as soluções com azeite e os óleos *Purple* e *Schanti* ainda não o alcançaram, embora a capacidade antioxidante (CA) dessas soluções varie pouco. Nota-se também que os óleos *Harle Tsu* e *Schanti* tenderam a atingir o equilíbrio mais rapidamente e apresentaram valores de capacidade antioxidante de 84% e 83%, respectivamente, sendo estes mais altos que o valor de CA do AOEV (75%) no período de 1 h. Isso se deve à maior quantidade de compostos antioxidantes presentes nos óleos, como os canabinoides, terpenos, flavonoides e o próprio diluente (azeite de oliva), em comparação com o azeite de forma isolada, bem como as interações sinérgicas entre essas substâncias.



Além disso, ao comparar o *Harle Tsu* e o *Schanti*, o primeiro atinge o equilíbrio em um tempo menor, o que pode estar relacionado à composição química de seu quimiotipo e às interações sinérgicas entre seus componentes. Desta forma, avaliando a tendência ao equilíbrio, o

tempo de reação e a baixa variação de CA das amostras foi definido o tempo de 1,5 h (5400 s) para o repouso das amostras antes das medições.

5.1.3. Análise dos óleos terapêuticos APEPI

As análises dos óleos terapêuticos (*Harle Tsu*, *Purple* e *Schanti*) e o AOEV pelo método DPPH foram realizadas em triplicata para cada uma das amostras, sendo realizadas leituras em quintuplicata no equipamento e em dias diferentes, no intervalo de 1 semana (Tabela 4 e Figura 16).

Tabela 4. Resultados das amostras pelo método DPPH

	Dia	AOEV	Harle Tsu	Purple	Schanti
Absorbância média (u.a.)	X	0,263 ± 0,174	0,278 ± 0,006	0,259 ± 0,006	0,229 ± 0,015
	Y	0,289 ± 0,003	0,272 ± 0,007	0,278 ± 0,024	0,227 ± 0,023
Capacidade Antioxidante (%)	X	70,83 ± 1,76	83,60 ± 0,71	74,44 ± 0,74	85,87 ± 1,66
	Y	69,09 ± 0,29	84,84 ± 0,78	73,64 ± 2,54	86,58 ± 2,49

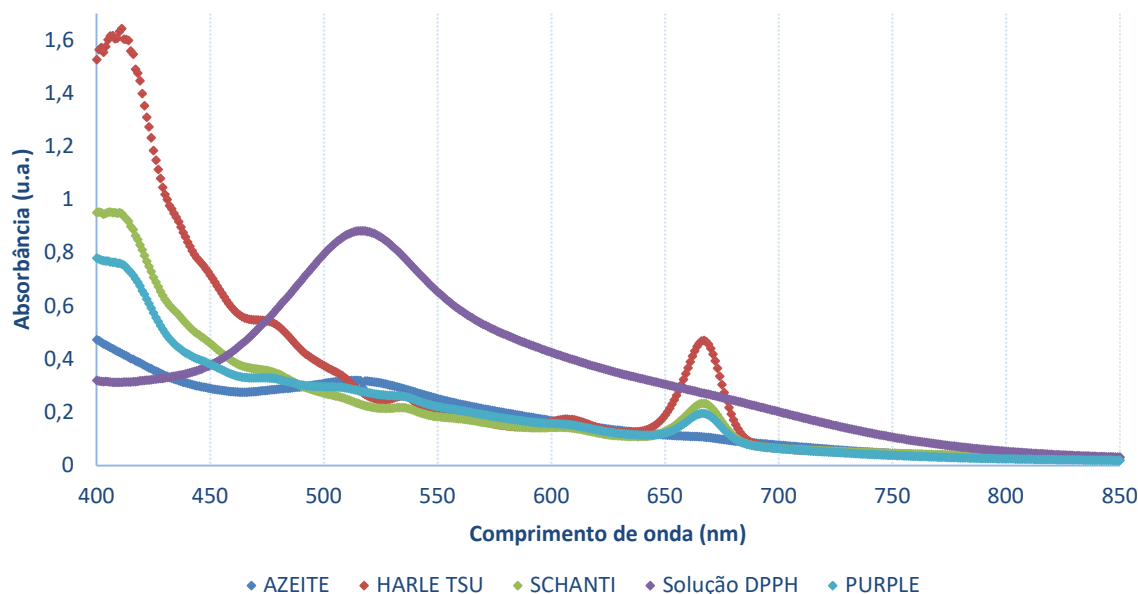
A partir dos resultados, observa-se que a amostra de menor valor de capacidade antioxidante foi o azeite, que é o diluente dos óleos terapêuticos, com média de 70% de CA, a qual se deve aos componentes antioxidantes presentes na sua composição, como polifenóis e ácidos graxos. O óleo *Purple*, por sua vez, apresentou cerca de 74% de CA, se mostrando ser 4% mais antioxidante que o azeite, o que pode estar relacionado à presença de THC, mesmo em baixas concentrações, e a outros componentes do quimiotipo. Os óleos *Schanti* e *Harle Tsu*, embora possuam concentrações distintas de canabinoides, demonstraram uma capacidade antioxidante elevada, 86% e 84%, respectivamente, associada à presença de CBD/THC, terpenos e flavonoides; além das interações provenientes do efeito *entourage*, que consegue potencializar a ação biológica e propriedades terapêuticas por meio de interações entre os canabinoides e/ou terpenos. O óleo *Schanti*, por exemplo, apresentou um valor de CA superior ao *Harle Tsu*, possivelmente devido à essas interações sinérgicas, visto que o *Schanti* é um quimiotipo balanceado de CBD e THC, resultando em uma sinergia entre os canabinoides.

Ao comparar os resultados obtidos no intervalo de tempo de 1 semana, foi possível verificar uma pequena variação nos valores de cada amostra, mas que praticamente não impactam,

visto que estão dentro da faixa de desvio padrão. Essas alterações podem estar vinculadas as condições de temperatura e pressão do ambiente.

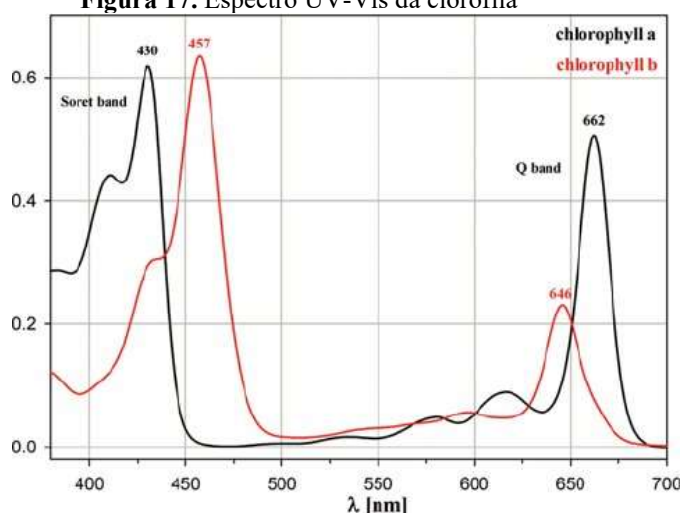
Para verificar graficamente o comportamento das amostras após a reação com o DPPH, foram realizadas varreduras para gerar um espectro completo, Figura 16, nos comprimentos de onda da luz visível (400 ~ 700 nm).

Figura 16. Espectro das leituras das amostras após reação com DPPH



Ao analisar os espectros da Figura 16, nota-se que os óleos possuem os mesmos picos por volta de 412 nm, 430 nm, 600 nm e 665 nm, os quais caracterizam o espectro da presença de clorofila A (Figura 17). A clorofila é o pigmento natural verde encontrado nas plantas responsável pela captação de luz, garantindo a realização da fotossíntese. Além disso, foi comprovado que as clorofilas possuem atividade antioxidante (Lanfer-Marquez, Barros e Sinnecker, 2005), logo, elas também podem interagir positivamente com os outros componentes da Cannabis para aumento da CA.

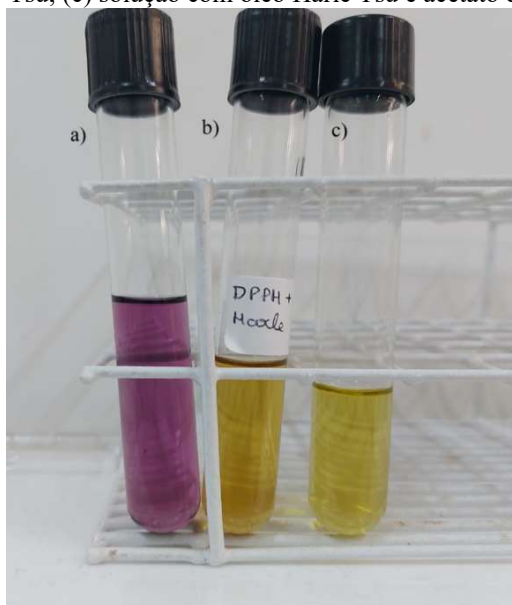
Figura 17. Espectro UV-Vis da clorofila



Fonte: (Makarska-Bialokoz e Kaczor, 2014)

Entretanto, devido a sua forte pigmentação, a clorofila pode interferir na determinação da capacidade antioxidante pelo método DPPH, por ser medida por uma variação de coloração da solução analisada. Ao realizar um teste qualitativo, foram comparados uma solução de DPPH sem amostra, solução de DPPH com uma gota de óleo *Harle Tsu* e uma solução com uma gota de óleo *Harle Tsu* dissolvido em acetato de etila, sem DPPH (Figura 18). Observou-se que a cor do óleo dissolvido no solvente (acetato de etila) atesta que a matriz apresenta uma coloração muito parecida com a do produto da reação com o DPPH, podendo, desta forma, afetar a veracidade na análise da reação. Ao comparar a relação entre as amostras e a presença de clorofila (Figura 17), percebe-se que o óleo *Harle Tsu* é o que mais possui clorofila em sua composição, o que pode favorecer a sua atividade antioxidante.

Figura 18. Soluções do teste qualitativo de coloração (a) solução de DPPH; (b) solução de DPPH com óleo Harle Tsu; (c) solução com óleo Harle Tsu e acetato de etila



Fonte: Arquivo pessoal

5.1.4. Análise dos diluentes

Os diluentes caracterizam a via de consumo de um óleo de Cannabis, podendo aprimorar na facilidade de digestão, aumento da conservação, ou potencialização das propriedades medicinais e palatáveis (sabor, aroma e textura). Diante disso, foram avaliados os extratos *Schanti* e *Purple* diluídos em diferentes diluentes, azeite de oliva extra virgem (AOEV), óleo de gergelim e óleo TCM (Figura 13 e Tabela 3).

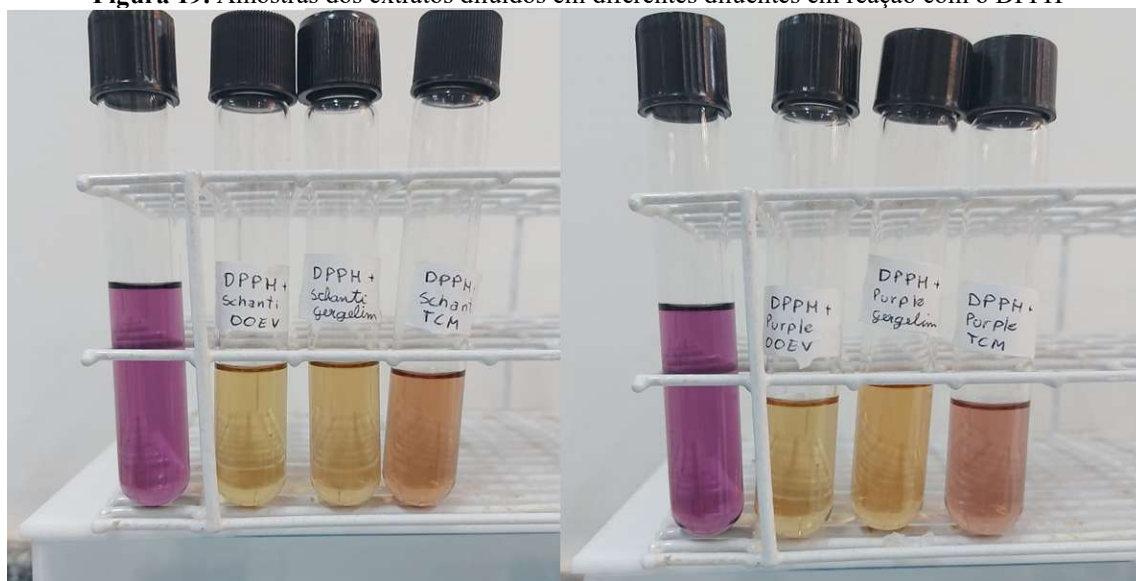
Analisando os resultados de CA para os extratos dissolvidos em diferentes diluentes (Tabela 5) foi possível constatar que os dissolvidos em azeite de oliva obtiveram a maior capacidade antioxidante. As soluções de extratos diluídos em óleo de gergelim também apresentaram uma boa CA, possuindo mais de 80% nos dois extratos. Dentre as soluções, as que proporcionaram as menores capacidades antioxidantes foram as diluídas em TCM, o que é justificado pela falta de estruturas antioxidantes em sua molécula, concluindo que a maior parte da capacidade antioxidante dessas amostras diluídas em TCM é proveniente da própria planta, por meio dos canabinoides, outros componentes e do efeito *entourage* provenientes destes compostos. Além disso, observa-se que as soluções com o extrato *Schanti* apresentaram valores superiores do que a com o extrato *Purple*, devido às diferenças de composição e interações de cada quimiotipo. Tais distinções também foram observadas pela tonalidade final das soluções após

reação com o DPPH (Figura 19), onde os extratos dissolvidos no azeite possuem coloração amarela pálida, que indica uma maior CA.

Tabela 5. Resultados das amostras de extratos diluídas em diferentes diluentes pelo método DPPH

Amostras	Absorbância média (u.a.)	Capacidade Antioxidante (%)
Schanti + AOEV	0,2208 ± 0,0066	87,80 ± 2,73
Schanti + Gergelim	0,2221 ± 0,0054	82,55 ± 1,91
Schanti + TCM	0,2697 ± 0,0017	79,18 ± 1,09
Purple + AOEV	0,2302 ± 0,0034	83,07 ± 1,20
Purple + Gergelim	0,2300 ± 0,0079	81,90 ± 3,76
Purple + TCM	0,3385 ± 0,0025	69,90 ± 0,71

Figura 19. Amostras dos extratos diluídos em diferentes diluentes em reação com o DPPH



Fonte: Arquivo pessoal

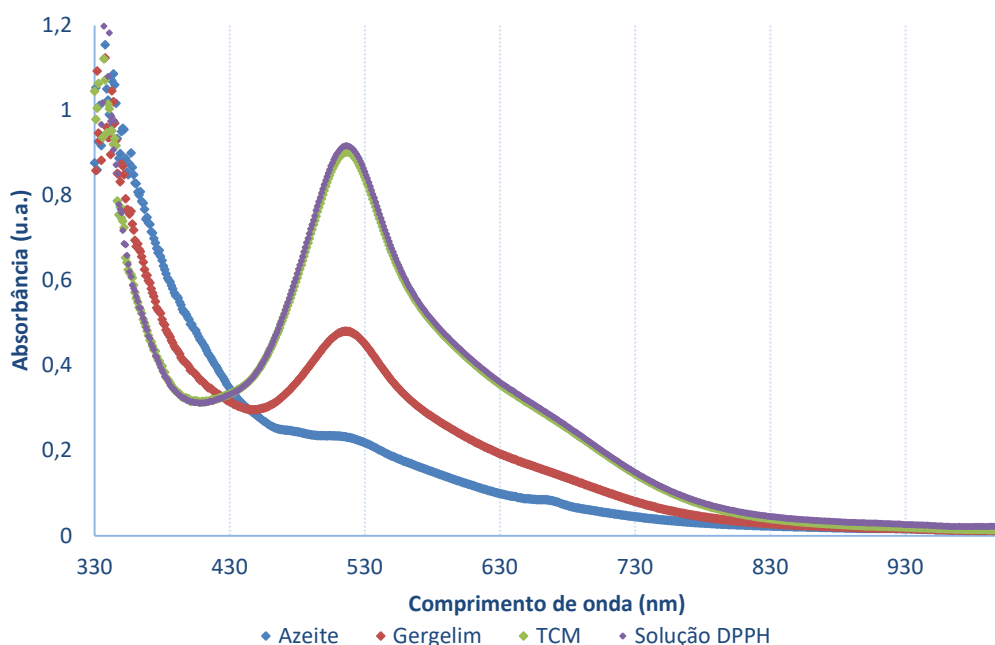
Além disso, foi verificada a atividade antioxidante dos diluentes isoladamente (Tabela 6), na qual pode-se confirmar que, dentre os diluentes analisados, o azeite de oliva possui o maior poder antioxidante, o que acaba interferindo positivamente na capacidade antioxidante do óleo medicinal à base de Cannabis. O óleo de gergelim também apresentou uma elevada CA, por conta da presença de estruturas antioxidantes, como sesamol e sesamina. Já o TCM possui 7% de capacidade antioxidante, mostrando que realmente não fornece ou impacta de

forma efetiva o aumento antioxidante no óleo medicinal, visto que não possui átomos de hidrogênio disponíveis para doação, os quais favorecem a atividade antioxidante. (Figura 20).

Tabela 6. Resultados das amostras de diluentes pelo método DPPH

Amostras	Absorbância média (u.a.)	Capacidade Antioxidante (%)
AOEV	0,2613 ± 0,0186	72,07 ± 1,73
Gergelim	0,4815 ± 0,0010	51,05 ± 0,09
TCM	0,9028 ± 0,0007	6,76 ± 0,07

Figura 20. Espectro UV-Vis da reação de DPPH com os diluentes



Diante dos resultados, o azeite de oliva extra virgem se mostrou o diluente mais apropriado, entre os analisados, para ser utilizado em óleos terapêuticos à base de Cannabis, considerando o aumento das propriedades antioxidantes, já que a composição do azeite contém diversos polifenóis e ácidos graxos. Além disso, o azeite de oliva consegue melhorar as propriedades palatáveis do óleo, contribuindo para o sabor, apesar de seu tempo de validade ser reduzido.

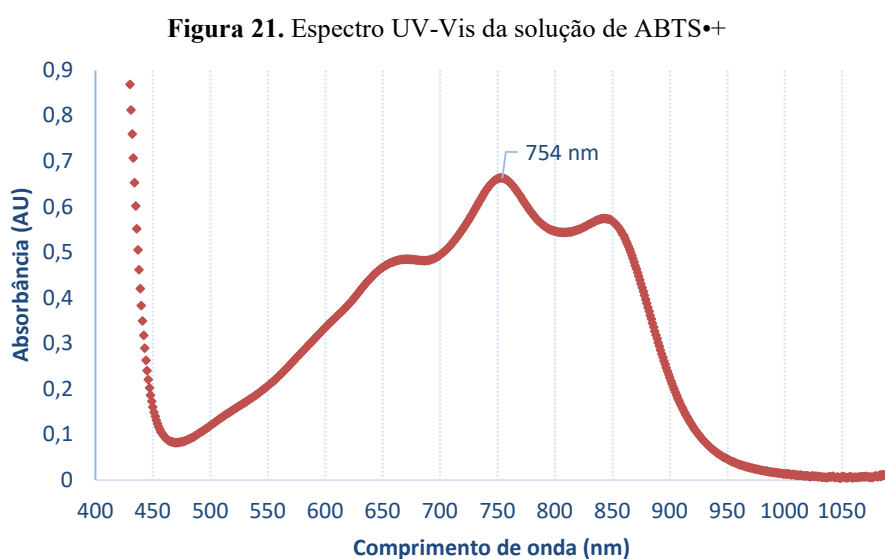
5.2. Capacidade Antioxidante - ABTS

5.2.1 Análise de Solubilidade

Com o intuito de verificar o melhor solvente para diluir a solução radical do ABTS^{•+}, e dissolver as amostras, para a conseguir realizar a reação, foram testados 4 tipos de solventes: acetato de etila, metanol, etanol e álcool anidro (89% etanol, 5% metanol e 6% isopropanol), os quais foram selecionados baseados em estudos da literatura (Cano e Arnao, 2018; Ilyasov *et al.*, 2020; Miller e Rice-Evans, 1997). O acetato de etila, apesar de ter uma boa solubilidade em óleos orgânicos, não solubilizou o ABTS^{•+}, já o etanol e metanol, apesar de solubilizar o ABTS^{•+}, não solubilizam óleos. Desta forma, o único solvente adequado, dentre os testados, para utilização no método, foi o álcool anidro, já que este conseguiu solubilizar e dissolver tanto o radical quanto os óleos.

5.2.2. Estabilidade e precisão das medidas da solução de ABTS^{•+}

Para averiguar o comprimento de onda de maior absorção do reagente, preparou-se uma solução de ABTS^{•+} em álcool anidro com absorbância de 0,70, que foi lida no espectrofotômetro UV-Vis, utilizando o álcool anidro como branco, e constatou-se que o comprimento de absorção máxima é de 754 nm (Figura 21), sendo um pouco distinto da literatura, 734 nm (Floegel *et al.*, 2011; Gaber, El-Dahy e Shalaby, 2023; Hacke *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2022; Shahidi e Zhong, 2015), devido ao efeito batocrômico provocado pelo solvente. Desta forma, todas as medidas de absorbância foram realizadas neste comprimento de onda.



Como intuito de averiguar e garantir a repetibilidade das medidas no espectrofotômetro UV-Vis, foi realizada a medição da solução de ABTS^{•+} 20 vezes seguidas, em todos os dias de análise antes da leitura das amostras, obtendo, em média, um desvio padrão de cerca de 0,0031 e um desvio padrão relativo de 0,41%. Tendo em vista os baixos valores de desvio que a solução de ABTS^{•+} apresentou, determinou-se que as medidas feitas no equipamento são confiáveis.

Além disso, foi verificada a estabilidade da solução armazenada em temperatura ambiente de um dia para o outro. No entanto, já no dia seguinte, a solução se apresentou degradada, o que confirma as recomendações, que indicam que a solução de ABTS^{•+} deve ser utilizada no mesmo dia de sua preparação para evitar erros na análise.

5.2.3. Estudo da quantidade de amostra de óleo medicamentoso

O método ABTS tem a tendência de ser um método mais sensível e com uma cinética de reação rápida. Ao reproduzir a análise com a mesma quantidade de amostra utilizada no método DPPH (4 gotas) verificou-se que a solução descoloriu imediatamente. Desta forma, para averiguar a melhor quantidade de amostra, realizou-se um teste variando-se a quantidade das amostras de azeite e do óleo *Harle Tsu*, em 1 e 2 gotas da amostra para 4 mL de solução ABTS^{•+}.

Ao utilizar apenas 1 gota ($0,0126 \pm 0,0012$ g) da amostra de AOEV obteve-se 30,10% de CA e ao aumentar para 2 gotas ($0,0251 \pm 0,0010$ g) seu valor de CA passou para 43,64%. Já para o óleo medicinal, ao utilizar 1 e 2 gotas da amostra obteve-se, respectivamente, 98,51% e 98,66% de CA. Desta forma, observou-se que o aumento da amostra interferiu minimamente no valor da CA do *Harle Tsu*, entretanto, impactou na CA do azeite, tendo um aumento de 13,54%. Logo, com o intuito de comparar com maior confiabilidade os resultados, utilizou-se a medida de uma gota de amostra ($0,0126 \pm 0,0012$ g) para 4 mL de solução radical ABTS^{•+} diluída em todas as análises.

5.2.4. Análise dos óleos terapêuticos APEPI

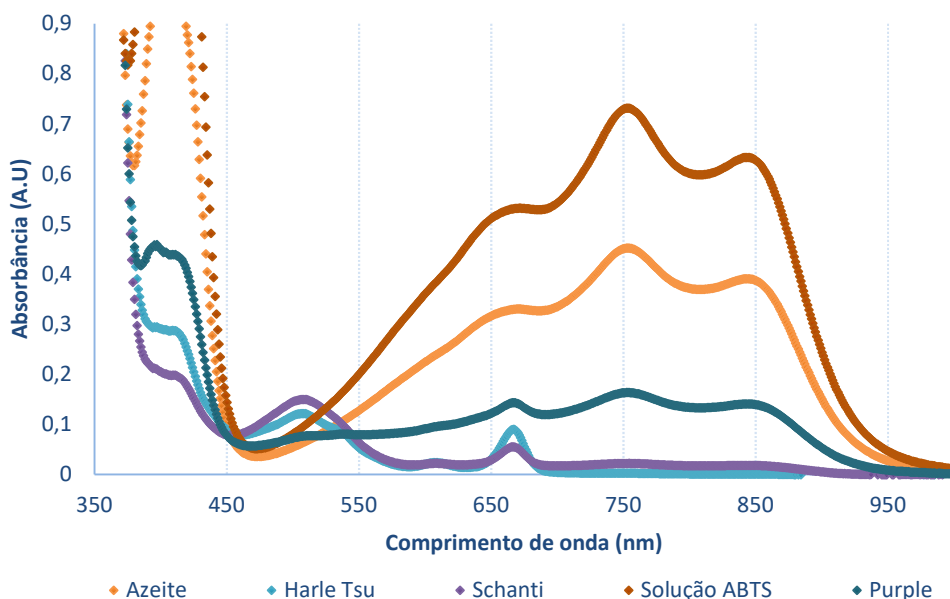
Da mesma forma que no método DPPH, no método ABTS foram analisados os três óleos fornecidos pela APEPI (*Harle Tsu*, *Purple* e *Schanti*) e o AOEV, em triplicata e em dias diferentes, no intervalo de 1 semana (Tabela 7 e Figura 22).

Tabela 7. Resultados das amostras pelo método ABTS

	Dia	AOEV	Harle Tsu	Purple	Schanti
	X	$0,528 \pm 0,009$	$0,005 \pm 0,002$	$0,166 \pm 0,002$	$0,047 \pm 0,014$

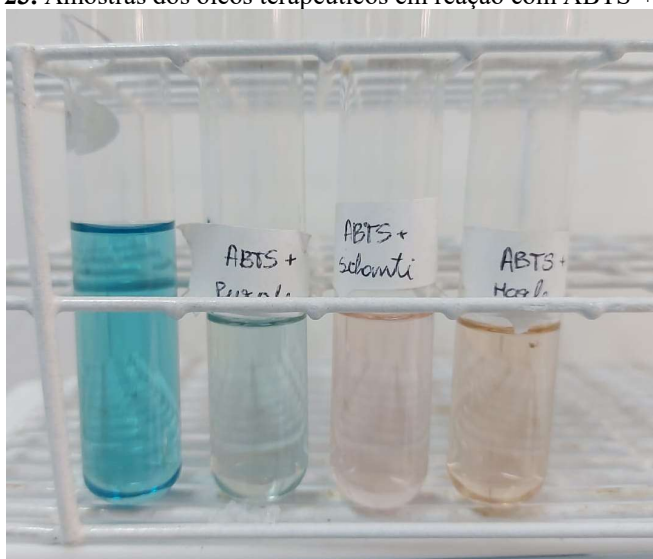
Absorbância média (u.a.)	Y	0,453 ± 0,016	0,003 ± 0,001	0,164 ± 0,005	0,023 ± 0,007
Capacidade Antioxidante (%)	X	30,10 ± 1,16	99,29 ± 0,23	77,29 ± 0,34	93,78 ± 1,73
	Y	38,07 ± 2,10	99,59 ± 0,05	77,59 ± 0,50	96,91 ± 0,95

Figura 22. Espectro das leituras das amostras após reação com ABTS



Através dos resultados, nota-se que a amostra que obteve o menor valor de capacidade antioxidante foi o AOEV, com uma média de 34%, sendo cerca de metade da porcentagem de CA obtida pelo método DPPH. Dentre os óleos, o *Purple* foi o que apresentou menor valor de CA (77%), que pode estar relacionado com a baixa concentração de THC na amostra. O *Harle Tsu* foi o que obteve o maior valor de atividade antioxidante, com quase 100%, que pode estar relacionado a concentração de CBD, bem como as interações e presença de outros componentes antioxidantes. O *Schanti*, que apesar de não conter uma concentração de canabinoides tão alta quanto o *Harle* em sua composição, obteve valores de CA próximos à 100%, possivelmente devido às interações sinérgicas entre CBD, THC e outros componentes, como os terpenos e flavonoides. A relação da capacidade antioxidante também pode ser reparada visivelmente pela descoloração das soluções (Figura 23). No caso, as soluções das amostras dos óleos descoloriram para um tom rosado, o que pode ser explicado devido a solvatação do solvente e a influência do pigmento da clorofila.

Figura 23. Amostras dos óleos terapêuticos em reação com ABTS•+



Fonte: Arquivo pessoal

Ao analisar os dados dos diferentes dias, observa-se que o azeite e o *Schanti* obtiveram um aumento de no mínimo 2% de CA, podendo estar relacionado a demora na leitura da amostra, fazendo com que a amostra reagisse por mais tempo com o ABTS, o que favoreceria o tempo de equilíbrio e aumentaria sua capacidade antioxidante. Além disso, ao comparar os resultados nos dois métodos (ABTS e DPPH), observou-se que o ABTS apresentou valores mais altos de CA para os óleos terapêuticos, porém mais baixos para o azeite de oliva.

5.2.5. Análise dos diluentes

A partir dos óleos preparados (Tabela 3), realizou-se a o estudo comparativo entre diluentes com o método ABTS (Tabela 8) e pode-se constatar que as amostras tiveram o mesmo comportamento que o método DPPH, entretanto com valores de CA mais altos, sendo o de maior atividade antioxidante o extrato *Schanti* diluído em azeite, com 96%. Entretanto, para a reação com os diluentes de forma isolada (Tabela 9), diferentemente dos extratos diluídos, o valor de capacidade antioxidante diminui em comparação com o método DPPH. O AOEV ainda se destaca com maior propriedade antioxidante dentre os diluentes (39%), devido principalmente à sua composição, já o TCM apresenta 2% de CA, confirmando a falta de compostos antioxidantes em sua estrutura, que também pode ser observado pela Figura 24, ao comparar o TCM com a própria solução radical de ABTS.

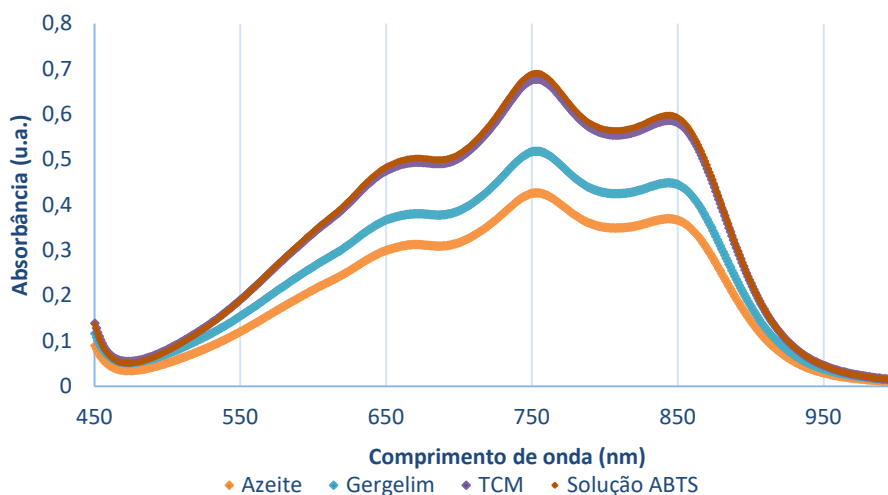
Tabela 8. Resultados das amostras de extratos diluídas em diferentes diluentes pelo método ABTS

Amostras	Absorbância média (u.a.)	Capacidade Antioxidante (%)
Schanti + AOEV	0,0280 ± 0,0141	96,34 ± 1,87
Schanti + Gergelim	0,0549 ± 0,0101	92,95 ± 1,31
Schanti + TCM	0,0800 ± 0,0070	89,33 ± 0,89
Purple + AOEV	0,0801 ± 0,0161	89,32 ± 2,13
Purple + Gergelim	0,1115 ± 0,0118	85,31 ± 1,55
Purple + TCM	0,1305 ± 0,0247	82,59 ± 3,28

Tabela 9. Resultados das amostras de diluentes pelo método ABTS

Amostras	Absorbância média (u.a.)	Capacidade Antioxidante (%)
AOEV	0,4272 ± 0,0114	38,71 ± 1,55
Gergelim	0,5190 ± 0,0085	25,58 ± 1,14
TCM	0,6780 ± 0,0011	2,33 ± 0,12

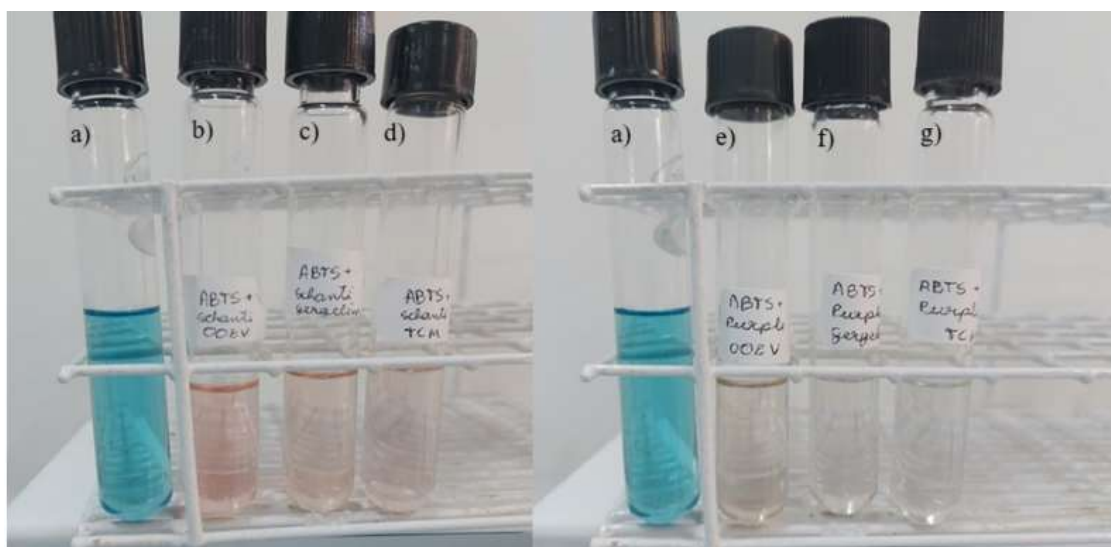
Figura 24. Espectro UV-Vis da reação de ABTS com os diluentes



Assim, comparando os valores, pode se notar que o aumento da CA também está atrelado a escolha do diluente (Figura 24), visto que eles de forma isolada, com exceção do TCM, possuem uma capacidade antioxidante de no mínimo 25%, podendo contribuir para as interações sinérgicas ou reações entre os constituintes da Cannabis presente em cada um dos dois quimiotipos, aumentando a intensidade de atividade antioxidante nos óleos terapêuticos. Ao

analisar as soluções visivelmente (Figura 25), nota-se que os que estão mais rosados, como o *Schanti* em azeite, são os que obtiveram taxas de CA mais altas, sendo possível verificar também, que os extratos *Schanti* diluídos ficam bem mais rosados que os do *Purple*, devido as maiores interações sinérgicas entre canabinoides (CBD e THC) e outros componentes presentes.

Figura 25. Amostras dos extratos diluídos em diferentes diluentes após reação com o ABTS. (a) Solução radical ABTS; (b) Extrato *Schanti* diluído em AOEV; (c) Extrato *Schanti* diluído em gergelim; (d) Extrato *Schanti* diluído em TCM; (e) Extrato *Purple* diluído em AOEV; (f) Extrato *Purple* diluído em gergelim; (g) Extrato *Purple* diluído em TCM



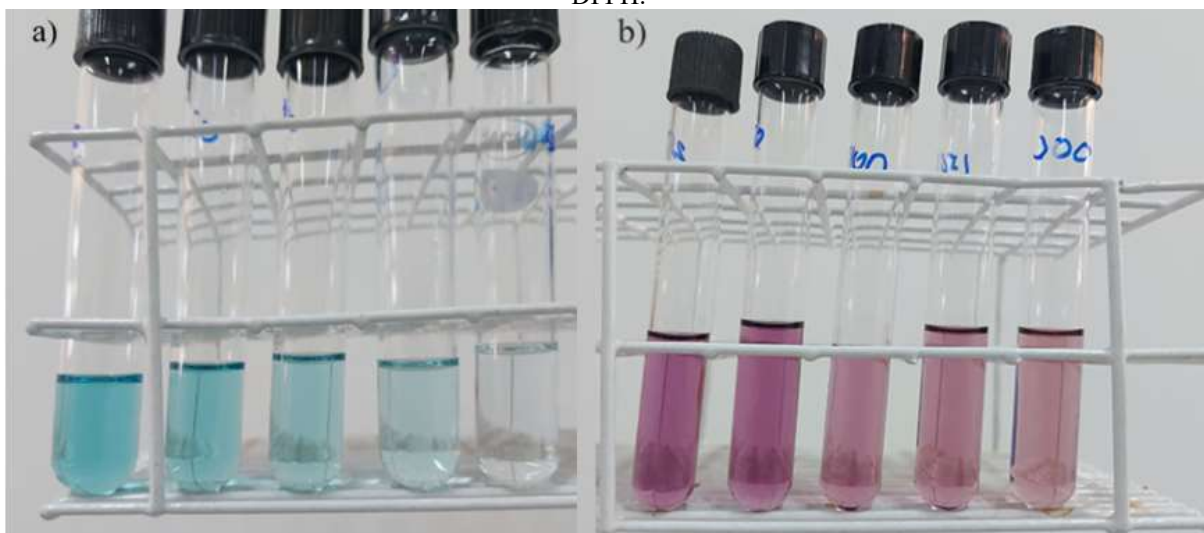
Fonte: Arquivo pessoal

5.3. Análise comparativa dos métodos

Tendo em vista a diferença entre cada método e seus mecanismos de reação, os quais podem ser por meio de transferência de átomo de hidrogênio (HAT) ou pela transferência de elétron único (ET), em ambos os métodos, foi construída uma curva analítica com intuito de verificar a resposta de cada método em função da concentração e da capacidade antioxidante, bem como a correlação entre os dois métodos. A curva analítica foi construída utilizando o ácido ascórbico (AA), o qual é utilizado como composto padrão de atividade antioxidante. Para isto foram analisadas as soluções de AA nas seguintes concentrações: 0,49 mg L⁻¹; 0,98 mg L⁻¹; 1,92 mg L⁻¹; 2,94 mg L⁻¹; 3,92 mg L⁻¹ para os dois métodos, ABTS e DPPH (Figura 26 e Figura 27). O tempo de reação para o método DPPH foi de 1,5 h e para o método ABTS foi de cerca de 6 min. Os dados foram plotados em função da concentração em relação à capacidade antioxidante das soluções nos seus devidos comprimentos de onda (ABTS – 754 nm e DPPH – 517 nm), com o objetivo de verificar o comportamento e atividade antioxidante de cada reação

com o AA. A correlação entre os métodos (Figura 28) foi feita em função da capacidade antioxidante do ácido ascórbico, sendo o eixo x do gráfico referente ao método DPPH e o eixo y referente ao método ABTS.

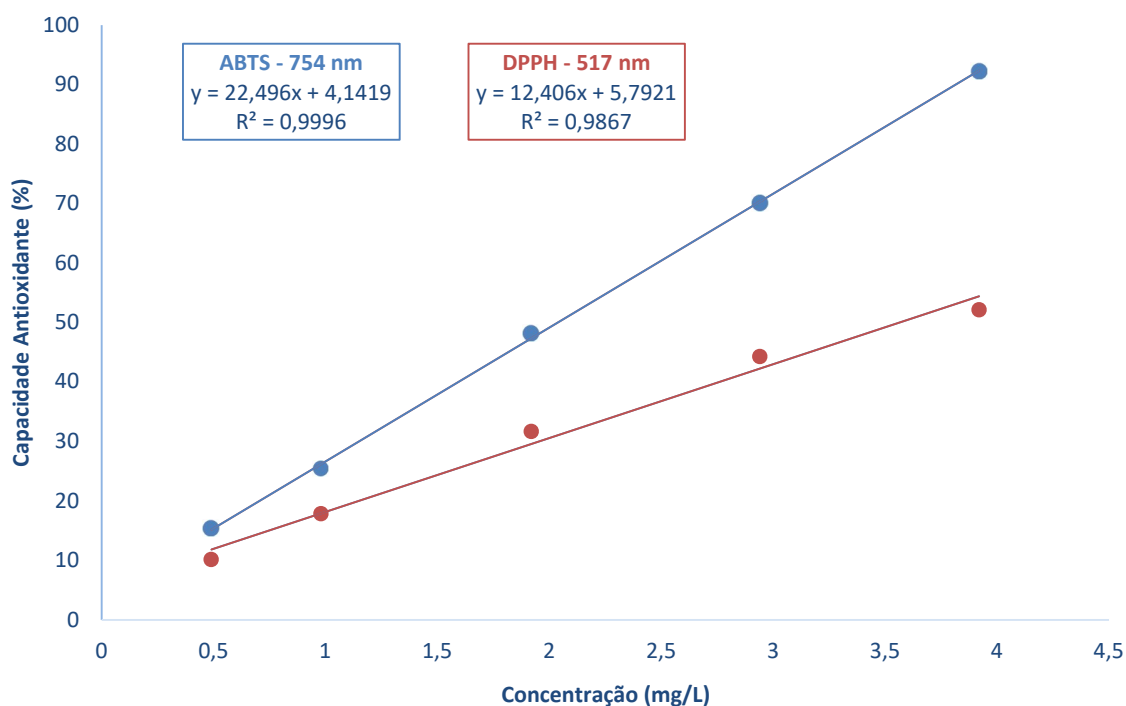
Figura 26. Amostras em concentração crescente de ácido ascórbico em reação (a) método ABTS; (b) método DPPH.



Fonte: Arquivo pessoal

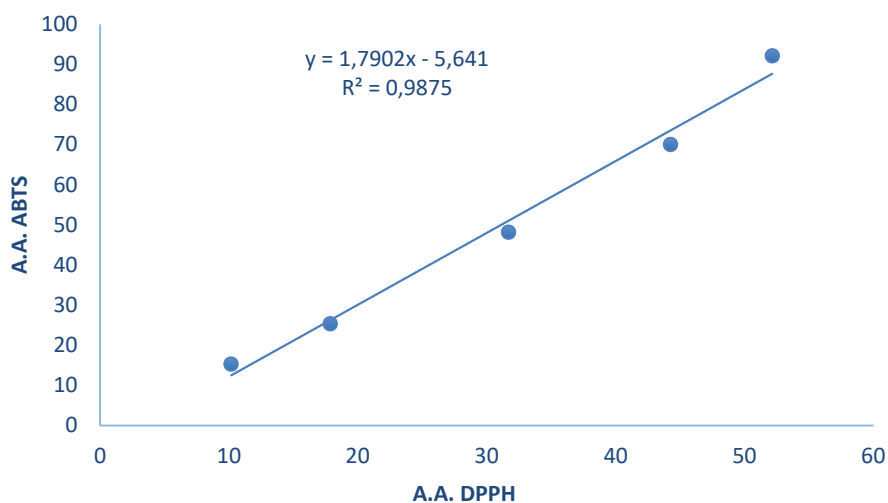
Avaliando a equação da reta e o valor do R^2 (Figura 27), pode se notar, pelo coeficiente angular (22,496), que o método ABTS possui uma maior sensibilidade e uma melhor linearidade em comparação ao método DPPH (12,406). A partir desta curva também é possível determinar a equivalência de capacidade antioxidante com os óleos terapêuticos a à base de Cannabis analisados, sendo que todos os óleos apresentaram uma atividade antioxidante maior que $3,92 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido ascórbico pelo método ABTS.

Figura 27. Curva analítica do ácido ascórbico com os métodos ABTS e DPPH



Em relação a correlação entre os métodos (Figura 28), pode se observar que o valor de R^2 foi de 0,9875, expressando uma linearidade razoável, indicando uma certa correspondência entre os dois métodos para a amostra de ácido ascórbico, o que pode ocorrer, também, com as amostras de óleos terapêuticos à base de Cannabis. Entretanto, para serem métodos perfeitamente correlacionáveis, era esperado que o coeficiente angular fosse igual a 1, porém o coeficiente obtido foi de 1,7902 mostrando que o método ABTS (eixo y) é mais rápido que o método DPPH (eixo x).

Figura 28. Correlação entre os métodos em relação a capacidade antioxidante



A sensibilidade do método também pode ser observada pelos resultados encontrados da análise dos óleos terapêuticos e de seus diluentes, os quais apresentaram taxas com cerca de 10% de diferença entre os métodos. Além disso, o método ABTS também se destacou pelo rápido tempo de reação, cerca de 6 min, o que pode ser explicado pelo próprio mecanismo de reação e as características do radical, que possui um centro ativo com maior acesso para interagir com a moléculas antioxidantes, quando comparada com o DPPH. Tendo em vista diferentes trabalhos na literatura, pode-se afirmar que os dois métodos produzem valores diferentes para uma mesma amostra (Floegel *et al.*, 2011; Gaber, El-Dahy e Shalaby, 2023; Hacke *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2021, 2022), semelhante ao encontrado no presente trabalho.

Diante de todos os resultados obtidos, foi possível concluir que todos os óleos terapêuticos à base de cannabis, bem como os extratos diluídos, possuem uma alta capacidade antioxidante, superior à 70%, em ambos os métodos, comprovando as propriedades antioxidantes da Cannabis. Essas propriedades estão diretamente ligadas aos componentes presentes em sua composição, principalmente aos canabinoides, terpenos e flavonoides, e de suas interações sinérgicas do efeito *entourage*, que potencializa os efeitos terapêuticos e medicinais dos óleos. Esse efeito pode ser visualizado ao comparar os óleos *Schanti* e *Harle Tsu*, visto que o *Schanti* apresentou os valores mais altos de CA no método DPPH e cerca de 95% de CA no método ABTS, ficando somente 4% abaixo da CA do *Harle Tsu*. Esses altos valores estão, possivelmente, vinculados às interações sinérgicas entre os canabinoides balanceados (CBD e THC) presentes no *Schanti*, que apesar de possuir menor concentração de canabinoides conseguiu superar ou se aproximar da capacidade antioxidante do *Harle Tsu*, que é mais concentrado em CBD. Além disso, este efeito também foi observado ao comparar os extratos diluídos, nos quais o *Schanti*, independente do diluente utilizado, apresentou os maiores valores em comparação com os óleos diluídos com o extrato *Purple*.

Além disso, observou-se que a presença de clorofila pode interferir na medição devido a sua intensa pigmentação, mascarando a coloração da solução em estudo, entretanto devido a suas propriedades, ela também pode contribuir para o aumento de atividade antioxidante. Nota-se também que os diluentes possuem um impacto no aumento da capacidade antioxidante das amostras, visto que ao comparar os mesmos extratos diluídos em diferentes diluentes, cada um obteve um valor diferente de CA. Este comportamento se deve a composição e presença de moléculas antioxidantes, o azeite de oliva, por exemplo, é rico em polifenóis, e apresentou maior CA, o mesmo ocorre com o óleo de gergelim que possui a sesamina e sesamol. Entretanto,

para o TCM observou-se baixas taxas de CA, devido à falta de moléculas antioxidantes em sua estrutura, não influenciando no aumento da capacidade antioxidante dos óleos. Desta forma, observa-se a importância da escolha do diluente na produção dos óleos terapêuticos à base de Cannabis, visto que podem intensificar as características medicinais e terapêuticas por meio de interações entre os componentes.

6. CONCLUSÃO

As análises revelaram o comportamento antioxidante dos óleos e extratos comerciais solubilizados em diferentes diluentes, por dois métodos analíticos diferentes. A partir da análise comparativa dos métodos, foi possível determinar que, para tal estudo, o melhor método para determinação da capacidade antioxidante foi o reagente ABTS, devido a sua sensibilidade e cinética de reação, conseguindo detectar sinais da amostra em baixas concentrações, e reagir em poucos minutos, caracterizando um método viável para verificação em associações e indústrias. Além disso, foi possível verificar que os métodos são correlacionáveis para a amostra de ácido ascórbico, indicando uma medição de forma consistente das mesmas variáveis.

Ademais, conclui-se que todos os óleos comerciais à base de Cannabis da APEPI apresentaram uma alta atividade antioxidante, acima de 70%. Verificou-se também que os óleos *Harle Tsu* e *Schanti* obtiveram cerca de 15% mais capacidade antioxidante que o seu respectivo diluente, azeite de oliva extravirgem - Alva Oliva. O que mostra que tal aumento pode ser proveniente da presença do efeito *entourage* entre os canabinoides majoritários (CBD, THC), terpenos, flavonoides e outras substâncias antioxidantes. Observou-se que dentre os óleos, o *Purple* foi o que apresentou menor CA, esta queda de valor pode estar relacionada à baixas relações sinérgicas ou à menor concentração de componentes antioxidantes, os quais variam para cada quimiotipo da Cannabis, evidenciando a complexidade da amostra.

Em relação ao estudo dos diluentes analisados, o que obteve a maior capacidade antioxidante nos dois métodos foi o azeite, o que é explicado pela presença de diversas moléculas que possuem átomos de hidrogênio disponíveis para doação, como os polifenóis e ácidos graxos. Além disso, tendo em vista os resultados, o óleo de gergelim podem ser utilizados como um diluente viável para os óleos comerciais, visto que possui uma capacidade antioxidante e um custo de compra próximo do azeite de oliva extra virgem. O TCM, além de ser um diluente com um maior custo de produção, visto que muitas vezes é necessário acrescentar saborizantes para trazer propriedades palatáveis, foi o que possuiu a menor capacidade antioxidante, o que

está relacionado a falta de moléculas antioxidantes na sua estrutura. Logo, o azeite se destaca como melhor diluente para óleos terapêuticos à base de Cannabis, mostrando que os óleos da APEPI e demais associações, que o utilizam como diluente, podem estar ampliando as propriedades antioxidantes. Desta forma, pode se concluir que os óleos comerciais à base de Cannabis da APEPI possuem elevada taxa de capacidade antioxidante, o que fornece maiores benefícios para o tratamento de doenças crônicas e neurodegenerativas.

7. REFERÊNCIAS

AMAR, M. BEN. **Cannabinoids in medicine: A review of their therapeutic potential** *Journal of Ethnopharmacology*, 21 abr. 2006.

ANVISA. **NOTA TÉCNICA Nº 26/2024/SEI/COCIC/GPCON/DIRE5/ANVISA**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt->>.

APAK, R. *et al.* Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry American Chemical Society*, , 10 fev. 2016.

APEPI-a. **Óleos da APEPI**. Disponível em: <<https://apepi.org/oleosdaapepi/>>. Acesso em: 01 de agosto de 2024.

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

BHUNIA, S. *et al.* **Cannabidiol for neurodegenerative disorders: A comprehensive review** *Frontiers in Pharmacology* Frontiers Media S.A., 25 out. 2022.

BLASCO-BENITO, S. *et al.* Appraising the “entourage effect”: Antitumor action of a pure cannabinoid versus a botanical drug preparation in preclinical models of breast cancer. *Biochemical Pharmacology*, v. 157, p. 285–293, 2018.

BONINI, S. A. *et al.* Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history *Journal of Ethnopharmacology* Elsevier Ireland Ltd, , 5 dez. 2018.

BRIGHENTI, V. *et al.* Development of a new extraction technique and HPLC method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type Cannabis sativa L. (hemp). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 143, p. 228–236, 2017.

CANO, A.; ARNAO, M. B. **7 ABTS/TEAC (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)/Trolox®-Equivalent Antioxidant Capacity) radical scavenging mixed-mode assay**. [s.l: s.n.].

CÁSEDAS, G. *et al.* Evaluation of two different Cannabis sativa L. extracts as antioxidant and neuroprotective agents. *Frontiers in Pharmacology*, v. 13, 13 set. 2022.

CHACON, F. T. *et al.* **Secondary Terpenes in Cannabis sativa L.: Synthesis and Synergy** *Biomedicines* MDPI, 1 dez. 2022.

DAWIDOWICZ, A. L.; OLSZOWY-TOMCZYK, M.; TYPEK, R. CBG, CBD, Δ 9-THC, CBN, CBGA, CBDA and Δ 9-THCA as antioxidant agents and their intervention abilities in antioxidant action. *Fitoterapia*, v. 152, 1 jul. 2021.

DAWIDOWICZ, A. L.; TYPEK, R.; OLSZOWY-TOMCZYK, M. Natural vs. artificial cannabinoid oils: the comparison of their antioxidant activities. *European Food Research and Technology*, v. 249, n. 2, p. 359–366, 1 fev. 2023.

DO, M. *et al.* Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. **Comunicado Técnico Online**, 2007.

FLOEGEL, A. *et al.* Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 24, n. 7, p. 1043–1048, 2011.

FUENTES, E. *et al.* Effect of the composition of extra virgin olive oils on the differentiation and antioxidant capacities of twelve monovarietals. *Food Chemistry*, v. 243, p. 285–294, 15 mar. 2018.

GABER, N. B.; EL-DAHY, S. I.; SHALABY, E. A. Comparison of ABTS, DPPH, permanganate, and methylene blue assays for determining antioxidant potential of successive extracts from pomegranate and guava residues. *Biomass Conversion and Biorefinery*, v. 13, n. 5, p. 4011–4020, 1 abr. 2023.

GALLEGOS M, S. R. Cannabinoids in Neuroinflammation, Oxidative Stress and Neuro Excitotoxicity. *Pharmaceutica Analytica Acta*, v. 06, n. 03, 2015.

HACKE, A. C. M. *et al.* Probing the antioxidant activity of Δ 9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol in Cannabis sativa extracts. *Analyst*, v. 144, n. 16, p. 4952–4961, 21 ago. 2019.

HOURLANE, S. *et al.* **A Comprehensive Review on Cannabis sativa Ethnobotany, Phytochemistry, Molecular Docking and Biological Activities Plants.** MDPI, 1 mar. 2023.

ILYASOV, I. R. *et al.* **ABTS/PP decolorization assay of antioxidant capacity reaction pathways** *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG, 1 fev. 2020.

IZZO, A. A. *et al.* Inhibitory effect of cannabichromene, a major non-psychotropic cannabinoid extracted from *Cannabis sativa*, on inflammation-induced hypermotility in mice. *British Journal of Pharmacology*, v. 166, n. 4, p. 1444–1460, jun. 2012.

JASTRZĄB, A.; JAROCKA-KARPOWICZ, I.; SKRZYDLEWSKA, E. The Origin and Bio-medical Relevance of Cannabigerol *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI, 1 jul. 2022.

KOLTAI, H.; NAMDAR, D. **Cannabis Phytomolecule “Entourage”: From Domestication to Medical Use Trends in Plant Science** Elsevier Ltd, 1 out. 2020.

KOPUSTINSKIENE, D. M. *et al.* **Cannabis sativa L. Bioactive Compounds and Their Protective Role in Oxidative Stress and Inflammation Antioxidants** MDPI, 1 abr. 2022.

LANFER-MARQUEZ, U. M.; BARROS, R. M. C.; SINNECKER, P. Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Research International*, v. 38, n. 8, p. 885–891, 2005.

LAZARJANI, M. P. *et al.* **Processing and extraction methods of medicinal cannabis: a narrative review** *Journal of Cannabis Research*. BioMed Central Ltd, 1 dez. 2021.

LI, H. *et al.* Inclusion complexes of cannabidiol with β -cyclodextrin and its derivative: Physicochemical properties, water solubility, and antioxidant activity. *Journal of Molecular Liquids*, v. 334, 15 jul. 2021.

LI, H. *et al.* Development of cannabidiol full-spectrum oil/2,6-di-O-methyl- β -cyclodextrin inclusion complex with enhanced water solubility, bioactivity, and thermal stability. *Journal of Molecular Liquids*, v. 347, p. 118318, 2022.

LI', H.-L. **An Archaeological and Historical Account of Cannabis in China**. *Economic Botany*, v. 28, p 437 - 448, 1974

MACHADO, A.; DIRETOR, C. **O uso medicinal da Cannabis**. Anvisa, 2023.

MACHADO LUCIANA; KOHAYAGAWA AGUEMI. Lesão oxidativa eritocitária e mecanismos antioxidantes de Interesse na medicina Veterinária. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. SãoPaulo: v. 8, p 84 – 94, 2009.

MAKARSKA-BIALOKOZ, M.; KACZOR, A. Computational Analysis of Chlorophyll Structure and UV-Vis Spectra: A Student Research Project on the Spectroscopy of Natural Complexes. *Spectroscopy Letters*, v. 47, ago. 2014.

MAZZARA, E. *et al.* Green extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) using microwave method for recovery of three valuable fractions (essential oil, phenolic compounds and cannabinoids): a central composite design optimization study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 102, n. 14, p. 6220–6235, 18 nov. 2022.

MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C. A. **Factors Influencing the Antioxidant Activity Determined by the ABTS•+ Radical Cation Assay.** [s.l: s.n.].

NALLATHAMBI, R. *et al.* Identification of synergistic interaction between cannabis-derived compounds for cytotoxic activity in colorectal cancer cell lines and colon polyps that induces apoptosis-related cell death and distinct gene expression. *Cannabis and Cannabinoid Research*, v. 3, n. 1, p. 120–135, 1 jun. 2018.

NAMDAR, D. *et al.* Terpenoids and Phytocannabinoids Co-Produced in Cannabis Sativa Strains Show Specific Interaction for Cell Cytotoxic Activity. *Molecules*, v. 24, n. 17, 2019.

ORALLO, D. E. *et al.* Long-term stability and bactericidal properties of galenic formulations of Cannabis sativa oils. *Fitoterapia*, v. 177, 1 set. 2024.

PAGANO, E. *et al.* An orally active Cannabis extract with high content in cannabidiol attenuates chemically-induced intestinal inflammation and hypermotility in the mouse. *Frontiers in Pharmacology*, v. 7, n. OCT, 4 out. 2016.

PAL, D.; CHANDRA, P.; SACHAN, N. Chapter 15 - Sesame Seed in Controlling Human Health and Nutrition. *Em: PREEDY, V. R.; WATSON, R. R. (Eds.). Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention (Second Edition). Second Edition ed.* [s.l.] Academic Press, 2020. p. 183–210.

PATTNAIK, F. *et al.* Cannabis: Chemistry, extraction and therapeutic applications. *Chemosphere*, v. 289, 1 fev. 2022.

PELLATI, F. *et al.* **Cannabis sativa L. and Nonpsychoactive Cannabinoids: Their Chemistry and Role against Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer** *BioMed Research International*. Hindawi Limited, 2018.

RAMELLA, A. *et al.* Impact of lipid sources on quality traits of medical cannabis-based oil preparations. *Molecules*, v. 25, n. 13, 1 jul. 2020.

RE, R. *et al.* **Original Contribution ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY**. [s.l: s.n.].

RISCALA, M. E.; CARDOSO, T. **ANUÁRIO DA CANNABIS MEDICINAL OS AVANÇOS LEGISLATIVOS E O IMPACTO DA REGULAMENTAÇÃO NO MERCADO E NA SAÚDE NO BRASIL**. [s.l: s.n.].

ROMANO, L. L.; HAZEKAMP, A. **Cannabis Oil: chemical evaluation of an upcoming cannabis-based medicine** *Cannabinoids*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.cannabis-med.org>.

RUSSO, E. B. The case for the entourage effect and conventional breeding of clinical cannabis: No “Strain,” no gain. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, 9 jan. 2019.

RUSSO, E. B.; PLUMB, J.; WHITELEY, V. L. Novel solventless extraction technique to preserve cannabinoid and terpenoid profiles of fresh cannabis inflorescence. *Molecules*, v. 26, n. 18, 1 set. 2021.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. **Measurement of antioxidant activity** *Journal of Functional Foods* Elsevier Ltd, 1 out. 2015.

SHAHU, R. *et al.* Phytochemical content and antioxidant activity of different varieties of *Stevia rebaudiana*. *Horticulture Environment and Biotechnology*, v. 63, n. 6, p. 935–948, 1 dez. 2022.

SOARES DE OLIVEIRA, N.; ANA CRISTI BASILE DIAS, O. Instituto de Química **DETERMINAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS PRINCIPAIS PARÂMETROS DO AZEITE DE OLIVA PARA APLICAÇÃO COMO DILUENTE DE EXTRATOS MEDICINAIS À BASE DE CANNABIS**. [s.l: s.n.].

STASIŁOWICZ-KRZEMIENÍ, A. *et al.* Determining Antioxidant Activity of Cannabis Leaves Extracts from Different Varieties—Unveiling Nature’s Treasure Trove. *Antioxidants*, v. 12, n. 7, 1 jul. 2023.

SUPREMO TRIBUNAL FEDERAL (STF). RE 635.659 (Tema 506 da Repercussão Geral). **RE 635.659 (Tema 506 da Repercussão Geral)**, [s.d.].

TOMKO, A. M. *et al.* **Anti-cancer potential of cannabinoids, terpenes, and flavonoids present in cannabis** *Cancers* MDPI AG, 1 jul. 2020.

TURA, M.; MANDRIOLI, M.; TOSCHI, T. G. Preliminary study: Comparison of antioxidant activity of cannabidiol (CBD) and α -tocopherol added to refined olive and sunflower oils. *Molecules*, v. 24, n. 19, 26 set. 2019.

VUČKOVIC, S. *et al.* Cannabinoids and pain: New insights from old molecules. *Frontiers in Pharmacology*, v. 9, n. NOV, 13 nov. 2018.

XIE, Z. *et al.* **Cannabis sativa: origin and history, glandular trichome development, and cannabinoid biosynthesis** *Horticulture Research*. Oxford University Press, 1 set. 2023.

YAMANAKA, E. S.; BONOTTO BARBOZA, R. A. **RESPOSTA TÉCNICA-Produção de triglicerídeos de cadeia média (TCM) a partir de óleo de coco**. São Paulo: [s.n.]. Disponível em: <<http://www.respostatecnica.org.br2>>.