

DOI: 10.58731/2965-0771.2025.114

**MÉTODO DE MONITORAMENTO DA DESCARBOXILAÇÃO DE
CANABINOIDES EM EXTRATOS DE *CANNABIS SATIVA* L. NA
ASSOCIAÇÃO TERAPÊUTICA CANNABIS MEDICINAL FLOR DA VIDA**

**METHOD FOR MONITORING CANNABINOID DECARBOXYLATION IN
CANNABIS SATIVA L. EXTRACTS IN THE MEDICINAL CANNABIS
THERAPEUTIC ASSOCIATION FLOR DA VIDA**

Me. Sven ZALEWSKI¹, Dr. Flávio A. CARVALHO¹, Me. Caio H. PEREGO¹, Me. Júlio
G. S. CAMARGO¹, Dr. Lucy E. SUGAUARA¹, Dr. Luís V. S. SACRAMENTO¹, Me.
Felipe G. PUCCI², Dr. Osvaine J. A. ALVES², Dr. André G. SANTOS¹

¹Faculdade de Ciências Farmacêuticas Unesp – Araraquara, ²Associação Terapêutica
Cannabis Medicinal Flor da Vida

Contato: sven.zalewski@unesp.com.br

Contato autor correspondente: andre.gonzaga@unesp.br

Resumo

A Associação Terapêutica Cannabis Medicinal Flor da Vida fornece formulações à base de extratos etanólicos de inflorescências de *C. sativa* para o tratamento dos pacientes associados. Para avaliar a descarboxilação de canabinoides no extrato, foi desenvolvido um método por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), que identifica canabinoides tanto na forma ácida quanto descarboxilada, permitindo verificar se os canabinoides no extrato e produto final estão em sua forma farmacologicamente ativa, ou seja, descarboxilada. O monitoramento do processo de descarboxilação, avaliando a presença de CBDA, THCA, CBD, THC e do CBN (principal produto de degradação), foi realizado por CCD em modo reverso (C18; metanol: água com 0,2 % de ácido acético 92:08 v/v), com observação sob luz ultravioleta (λ 254 nm) e revelação através de nebulização de solução de vanilina sulfúrica. A técnica de CCD demonstrou ser eficiente para o monitoramento da descarboxilação e da degradação dos canabinoides nos extratos, possibilitando ajustes e otimizações no processo de produção. A possibilidade de observar THCA, CBDA e CBN sob luz UV torna o método prático sem a necessidade de revelação química.

Palavras-chave: Cromatografia em Camada Delgada; Controle de Qualidade; Cromatografia em Fase Reversa; Canabinoides; Descarboxilação

Abstract

The Associação Terapêutica Cannabis Medicinal Flor da Vida provides formulations based on ethanolic extracts of *C. sativa* inflorescences for the treatment of associated patients. To evaluate cannabinoid decarboxylation in the extract, a Thin Layer Chromatography (TLC) method was developed. This method identifies cannabinoids in both their acidic and decarboxylated forms, allowing verification of whether the cannabinoids in the extract and final product are in their pharmacologically active form (i.e., decarboxylated). The monitoring of the decarboxylation process, assessing the presence of CBDA, THCA, CBD, THC, and CBN (the main degradation product), was performed using reversed-phase TLC (C18; methanol: water with 0.2% acetic acid 92:08 v/v), observing under ultraviolet light (λ 254 nm) and further revealed by nebulizing sulfuric vanillin solution. The TLC technique proved to be efficient for monitoring the decarboxylation and degradation of cannabinoids in the extracts, enabling adjustments and optimizations in the production process. The ability to observe THCA, CBDA, and CBN under UV light makes the method practical, eliminating the need for chemical reagents.

Keywords: Chromatography, Thin Layer; Quality Control; Chromatography, Reverse-Phase; Cannabinoids; Decarboxylation.

Introdução

A descarboxilação é um processo inerente a cadeia produtiva de produtos a base de *Canabis sativa* L. Este processo térmico é responsável por converter os canabinoides ácidos em sua forma farmacologicamente ativa, a descarboxilada.¹

A Associação Terapêutica Cannabis Medicinal Flor da Vida (Franca-SP) realiza o processo de descarboxilação térmica nos extratos etanólico de inflorescências de *C. sativa* que são utilizados no preparo das formulações fitoterápicas (óleos de cannabis e pomadas). O monitoramento da descarboxilação dos canabinoides através de um método simples, de baixo custo e confiável é uma etapa importante nesta cadeia produtiva para garantir a qualidade das formulações.

O objetivo deste trabalho foi implementar um método de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) para realizar o monitoramento do processo de descarboxilação de canabinoides em extratos empregados na produção dos produtos à base de *C. sativa* da associação. Além disso, realizar treinamento junto à equipe técnica da associação para utilizar o método de CCD como técnica de controle de qualidade e controle de processo.

Materiais e Métodos

O processo de descarboxilação de canabinoides na associação é realizado no extrato etanólico seco em rotaevaporador. Este extrato é aquecido num béquer em banho-maria à 85 °C por 5 h sob agitação. Foram analisados três diferentes lotes de extratos. O lote 1 foi monitorado ao longo do processo (5 h), sendo a temperatura do extrato registrada em 70 °C. O extrato do lote 2 foi obtido a partir de uma solução extrativa recém filtrada sem ser submetida aos processos de concentração/secagem e descarboxilação. O lote 3 corresponde a um extrato descarboxilado previamente. Para o monitoramento da descarboxilação no lote 1, uma alíquota de 10 mg do extrato foi amostrada antes do início do processo e outras alíquotas foram amostradas a cada 1 h até a finalização do processo.

As amostras foram solubilizadas em etanol (Êxodo Científica[®]) na concentração de 1,0 mg/mL, aplicadas (4 µL) em cromatoplaça C18 (Supelco[®] sílica gel 60 RP-18

F₂₅₄, 0,2 mm) e eluídas por 4,5 cm. Um MIX dos padrões de canabinoides - ácido canabidiólico (CBDA), canabidiol (CBD), canabinol (CBN), Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) (Cayman Chemical[®]), ácido Δ^9 -tetrahydrocannabinólico A (THCA-A) (Supelco[®]) e canabigerol (CBG) (Agilent[®]) - foi preparado na concentração de 40 $\mu\text{g/mL}$ em acetonitrila (Sigma-Aldrich[®]). Fase móvel: metanol (Êxodo Científica[®]): água acidificada com 0,2 % de ácido acético (Impex[®]) 92: 08 (v/v) (método adaptado da American Herbal Pharmacopoeia²). As cromatoplaças foram observadas sob luz ultravioleta (λ 254 nm) e reveladas nebulizando solução de vanilina sulfúrica, seguido de aquecimento em estufa a 110 °C por 10 min e observação sob luz visível.

Resultados

As bandas dos canabinoides THCA, CBDA e CBN foram melhor visualizadas sob luz ultravioleta (λ 254 nm) e os canabinoides THC, CBD e CBG sob revelação com solução de vanilina sulfúrica (Figura 1).

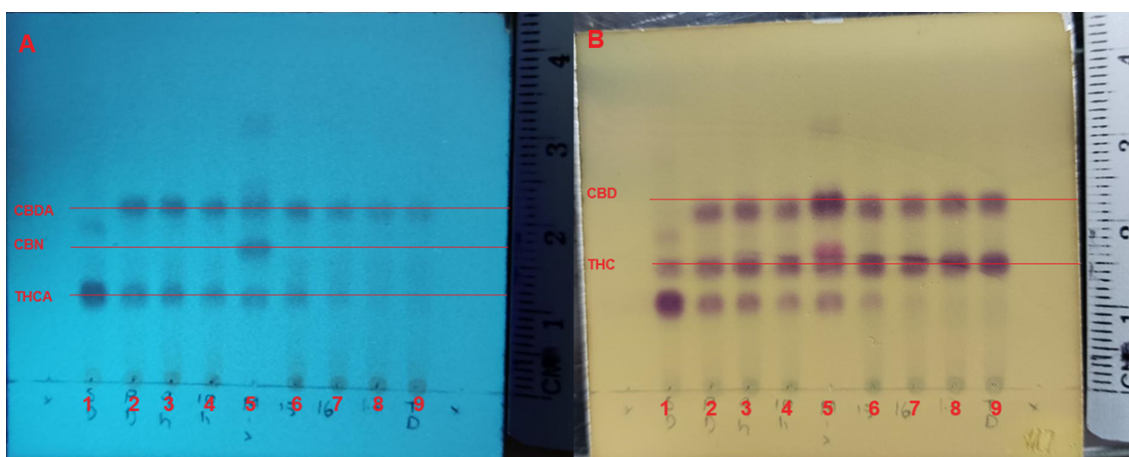


Figura 1 - Cromatoplaças (sílica C18; 0,20 mm). Amostras: 1 - extrato não descarboxilado lote 2 (1 mg/mL); 2 - extrato retirado após concentração em rotaevaporador lote 1 (1 mg/mL); 3 - extrato com 1 h de descarboxilação lote 1 (1 mg/mL); 4 - extrato com 2 h de descarboxilação lote 1 (1 mg/mL); 5 - MIX 40 $\mu\text{g/mL}$ (THC - Δ^9 -tetrahydrocannabinol, THCA - ácido Δ^9 -tetrahydrocannabinólico, CBD - canabidiol, CBDA - ácido canabidiólico, CBN - canabinol, CBG - canabigerol); 6 - extrato com 3h de descarboxilação lote 1 (1 mg/mL); 7 - extrato com 4h de descarboxilação lote 1 (1 mg/mL); 8 - extrato com 5h de descarboxilação lote 1 (1 mg/mL); 9 - extrato descarboxilado lote 3 (1 mg/mL). Aplicação: extratos 4 μL ; MIX, 15 μL . Fase móvel: metanol: água com 0,2 % de ácido acético glacial – 92: 8 (v/v). Placa: 5 cm. Distância total de eluição: 4,5 cm. (A): Visualização sob luz ultravioleta λ 254 nm. (B): solução vanilina sulfúrica (110° C por 10 min).

É possível observar o desaparecimento gradual da banda de THCA ao longo do processo tanto no lote 1 quanto no lote 3. Em relação ao CBDA, foi observada uma redução gradual do tamanho de sua banda, embora ela não tenha desaparecido completamente. O lote 2 demonstrou uma banda intensa de THCA e uma tênue de THC sendo ausente as bandas de CBD/CBDA.

Não houve formação de CBN detectável por CCD no processo de descarboxilação.

Discussão

O método de descarboxilação dos canabinoides no extrato foi eficiente para descarboxilação do THCA no lote 3 e ao final do monitoramento do lote 1. O processo incompleto para o CBDA demonstra a sua maior resistência ao tratamento térmico também descrito na literatura³ sendo a condição de 70 °C por 5h insuficiente para sua completa conversão para CBD.

É possível observar os canabinoides ácidos e o CBN (padrão) sob luz UV devido as suas características espectroscópicas de maior absorção neste comprimento de onda⁴ mostrando que ao trabalhar com os extratos nesta concentração e volume de aplicação (1 mg/mL; 4 µL) não é necessário realizar a revelação da cromatoplaça para acompanhamento do processo de descarboxilação, sendo necessário observar apenas o desaparecimento das bandas dos canabinoides ácidos e a não formação do produto de degradação, o CBN.

O THC presente no lote 2 e no lote 1 antes da descarboxilação, indica que previamente ao processo houve uma descarboxilação parcial das amostras durante a cadeia produtiva podendo ter ocorrido no processo de secagem e armazenamento da droga vegetal.⁵

A ausência de CBN nos lotes analisados demonstra qualidade na cadeia produtiva da associação, já que a presença deste canabinoide indica degradação da amostra.^{6,7}

Conclusões

O método de CCD foi eficiente para o monitoramento da descarboxilação de canabinoides e da formação de produto de degradação nos extratos da Associação Flor da Vida. O treinamento permitiu capacitar os membros da equipe técnica da associação para realizar as análises de CCD e interpretar os dados.

Agradecimentos

A Frente Parlamentar da Cannabis Medicinal e Cânhamo Industrial ALESP, ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Biodiversidade e Produtos Naturais (INCT BioNat), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 pelo financiamento que possibilitou este estudo.

Referências

- ¹ Lewis-Bakker MM, van de Donk T, Houweling M, van der Kooy F, Beumer TL, den Hartigh J, et al. Extractions of medical cannabis cultivars and the role of decarboxylation in optimal receptor responses. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2019;4(3):183-94.
- ² American Herbal Pharmacopoeia. *Cannabis Inflorescence Monograph*. Upton R, Craker L, ElSohly M, Romm A, Russo E, Sexton M, et al. 2014.
- ³ Wang M, Wang YH, Avula B, Radwan MM, Wanas AS, van Antwerp J, et al. Decarboxylation study of acidic cannabinoids: a novel approach using ultra-high-performance supercritical fluid chromatography/photodiode array-mass spectrometry. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2016;1(1):262-71.
- ⁴ Hazekamp A, Peltenburg A, Verpoorte R, Giroud C. Chromatographic and spectroscopic data of cannabinoids from *Cannabis sativa* L. *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 2005;28(15):2361-82.

- ⁵ Spadafora ND, Felletti S, Chenet T, Citti C. The influence of drying and storage conditions on the volatilome and cannabinoid content of *Cannabis sativa* L. inflorescences. *Anal Bioanal Chem.* 2024;416:3797–3809.
- ⁶ Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Brasileira*. 7th ed. Brasília, DF: Anvisa; 2024. v. 2 – Monografias Plantas Medicinais, p. 149-157. *Cannabis*, Inflorescência Monografia.
- ⁷ Berman P, Futoran K, Lewitus GM, Mukha D, Benami M, Shlomi T, et al. A new ESI-LC/MS approach for comprehensive metabolic profiling of phytocannabinoids in *Cannabis*. *Sci Rep.* 2018;8(1):14280.