



MECANOQUÍMICA COMO ALTERNATIVA NO PREPARO DE AMOSTRAS PARA O DOSEAMENTO DE CANABINOIDES EM INFLORESCÊNCIAS DE *CANNABIS*

Silvânia Narielly A. Lima¹; José Robson da S. Filho²; Ivani Malvestiti²; Pedro J. R. Neto¹; Larissa A. Rolim¹

¹ Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCFAR), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

² Departamento de Química Fundamental (DQF), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

silvania.narielly@ufpe.br

Palavras-chave: homogeneização, fitocanabinoides, Farmacopeia Brasileira.

Introdução

A *Cannabis sativa* L. é utilizada para diferentes finalidades, incluindo aplicações terapêuticas e recreativas (Andre; Hausman; Guerriero, 2016; Downer, 2020). Seu amplo potencial de utilização está relacionado à complexidade de sua composição química, que reúne cerca de 200 fitocanabinoides, destacando-se o canabidiol (CBD) e canabinol (CBN), associados aos efeitos terapêuticos da espécie (Sun, 2023; Fernández *et al.*, 2023; Neto *et al.*, 2023).

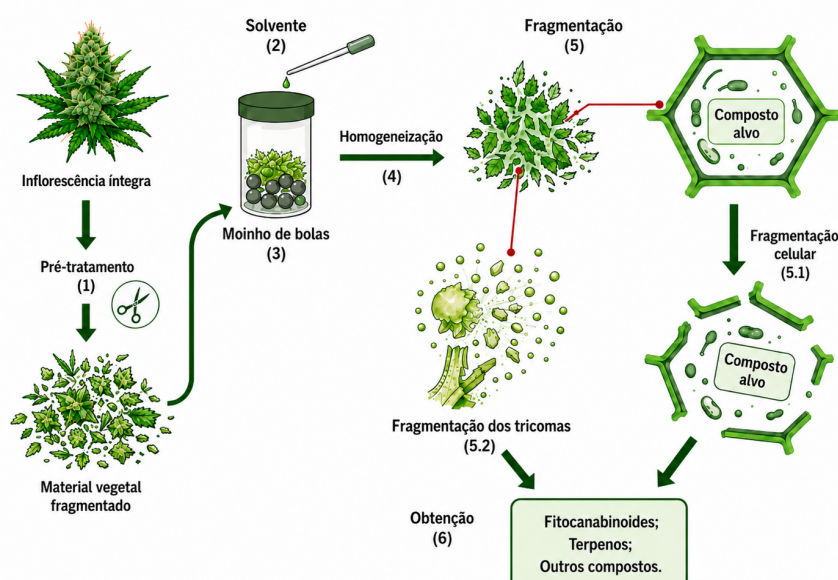
A escolha do processo extrativo também deve considerar a quantidade de biomassa processada, a estabilidade e as propriedades físico-químicas dos canabinoides, e aspectos econômicos e ambientais (Nahar *et al.*, 2021). Além disso, variáveis como temperatura, tempo de processamento, tamanho das partículas e tipo de solvente devem ser controladas, pois podem influenciar a recuperação dos compostos e a composição final (Fathordoobady *et al.*, 2019; Naviglio *et al.*, 2019).

Entre os métodos extrativos, destaca-se a mecanoquímica, que utiliza forças mecânicas para provocar modificações físicas e, em determinadas condições, químicas nos materiais processados (Obregon; Wang, 2024; Sáenz *et al.*, 2025). Na extração de produtos naturais, a aplicação dessas forças favorece a desestruturação da matriz vegetal, aumenta a disponibilidade dos compostos, promove a redução e a homogeneização das partículas. Logo, a matriz vegetal pode adquirir uma estrutura mais porosa e acessível, facilitando a liberação dos compostos, ampliando seu contato com o solvente e proporcionando maior eficiência extrativa (Ozer, 2021; Pan *et al.*, 2017). Dessa forma, a extração para fins analíticos não busca produzir grandes quantidades de extrato, mas proporcionar a recuperação representativa e reprodutível dos compostos para sua posterior quantificação (Chauthe *et al.*, 2012).

Os processos mecanoquímicos podem ser realizados em diferentes equipamentos, como os moinhos de bolas, nos quais a energia cinética das esferas é transferida para a amostra por meio de choques, compressão e atrito (Arfelis *et al.*, 2024; Cuccu *et al.*, 2022; Reynes; Leon; García, 2024). Uma das modalidades de aplicação da mecanoquímica é a moagem assistida por líquido. O líquido favorece a transferência, a dispersão e a solubilização dos compostos liberados durante a fragmentação da matriz vegetal (Ying; Yu; Su, 2021).

A Figura 1 ilustra o processo de homogeneização de compostos *Cannabis*, o qual tem início com o pré-tratamento do material vegetal para reduzir seu tamanho (1), seguido da adição do solvente ao moinho de bolas (2 e 3) e da homogeneização (4). As forças de impacto e cisalhamento promovem a fragmentação dos tecidos e das paredes celulares (5.1) e dos tricomas (5.2), reduzindo as partículas e favorecendo a liberação dos compostos-alvo intracelulares. As moléculas liberadas podem participar de reações mecanoquímicas, facilitando sua transferência e solubilização. Assim, a técnica pode aumentar a taxa de extração (6), reduzir o tempo de processamento e otimizar a obtenção de canabinoides da *Cannabis*.

Figura 1: Exemplo do processo de extração por homogeneização da *Cannabis*.



A aplicação da mecanoquímica na recuperação de produtos naturais já foi descrita em diferentes matrizes vegetais, incluindo espinheiro-marítimo (Guo *et al.*, 2021), farelo de arroz (Zheng *et al.*, 2023) e *Receptaculum Nelumbinis* (Bao *et al.*, 2023). No processamento de materiais derivados de *Cannabis*, a ação mecânica tem sido empregada principalmente como etapa de pré-tratamento da biomassa, visando modificar suas características físicas e facilitar os procedimentos subsequentes (Akatan *et al.*, 2021; Julakanti *et al.*, 2023; Khan *et al.*, 2009; Mano-Sousa *et al.*, 2023). Entretanto, sua aplicação como método de preparo de amostras para o doseamento de fitocanabinoides e sua comparação com o método ultrassônico proposto pela Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2024) ainda não foi explorada.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a mecanoquímica como método de preparo de amostras para o controle de qualidade de inflorescências de *Cannabis sativa* L., investigando a influência do tempo de homogeneização e do nível de agitação na extração de CBD e CBN. Para isso, os teores foram comparados aos obtidos pelo método de extração por banho ultrassônico descrito na Farmacopeia Brasileira, 7ª edição.

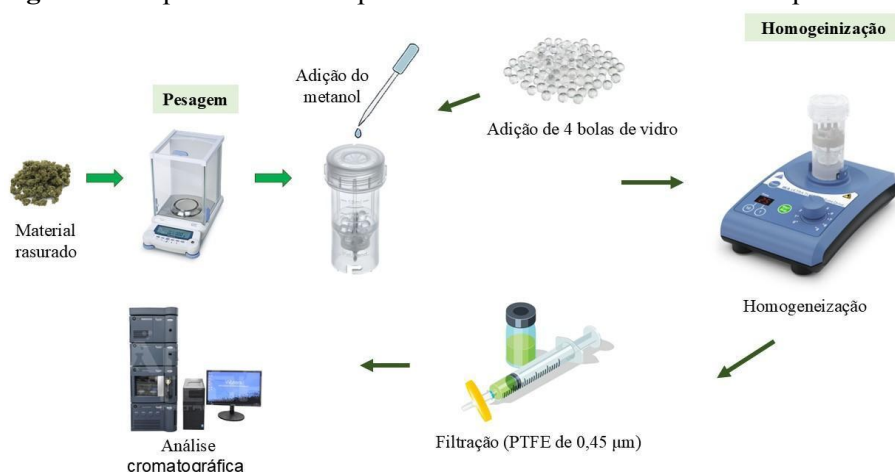
Material e Métodos

Foram utilizadas inflorescências com dois quimiotipos de *Cannabis sativa* L. doadas por associações ao Grupo de Pesquisa e Extensão Tecnológica em *Cannabis* Medicinal (GPETCAM) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os estudos foram autorizados pela Justiça Federal Brasileira (Alvará nº 4058308.27221716), pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (autorizações nº 009/2025 e 028/2025) e pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (cadastro nº AC1D09D).

A quantificação dos canabinoides foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência associada à detecção por arranjo de diodos (CLAE-DAD), Shimadzu LC-2030C NT, utilizando método adaptado e validado de Carvalho *et al.* (2020). A fase móvel foi composta pela solução A, constituída de tampão formiato de amônio 10 mM, pH 4-5, e pela solução B, constituída de metanol grau CLAE. A separação ocorreu em coluna C18 Agilent® (250 × 4,6 mm; 5 µm), utilizando eluição em gradiente. O fluxo foi de 0,8 mL/min, o volume de injeção de 10 µL e a detecção realizada a 240 nm. Foram construídas curvas de calibração para o CBN e o CBD, utilizando-se padrões nas concentrações de 1, 10, 25, 50, 75 e 100 µg/mL.

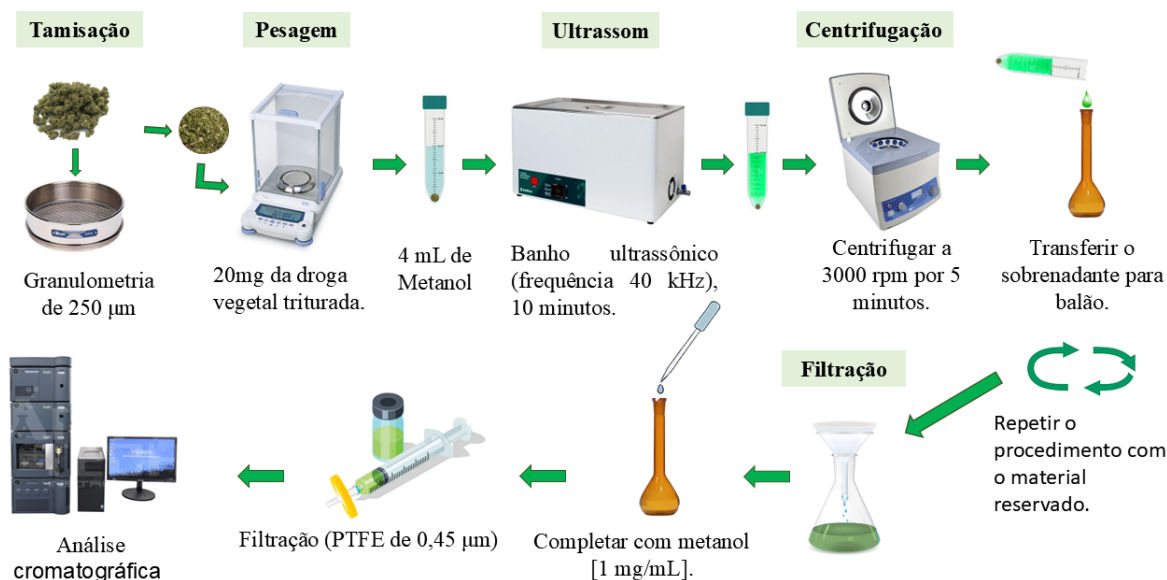
Para extração por mecanoquímica, foi realizado um planejamento experimental com razão de 1 mg de inflorescência por 1 mL de solvente, avaliando tempos de 5 e 15 minutos e níveis de agitação 3, 6 e 8. Posteriormente, foram utilizados 5 mg de amostra de cada quimiotipo, 5 mL de metanol e quatro esferas de vidro, avaliando tempos de 2 e 5 minutos e níveis de agitação 2, 4 e 8. Após a extração, as amostras foram filtradas em membrana de PTFE de 0,45 µm, analisadas por CLAE (Figura 2).

Figura 2: Preparo da amostra para doseamento das inflorescências por mecanoquímica.



Para comparação, utilizou-se o método de ultrassom, descrito na 7ª edição da Farmacopeia Brasileira (Figura 3). Foram utilizados 20 mg de inflorescência para cada quimiotipo, com granulometria de 250 µm, e 4 mL de metanol. A amostra foi submetida a banho ultrassônico a 40 kHz durante 10 minutos e centrifugada a 3.000 rpm por 5 minutos. O procedimento foi repetido com o resíduo vegetal. Após completar o volume com metanol, obteve-se uma solução de 1 mg/mL, filtrada em membrana de PTFE de 0,45 µm, analisadas por CLAE.

Figura 3: Preparo da amostra para doseamento das inflorescências por ultrassom.



Resultados e Discussão

Para viabilizar a quantificação dos canabinoides, inicialmente foram realizados os estudos preliminares de detecção e identificação do CBD e do CBN, nos quais foram determinadas as características cromatográficas e espectrais desses compostos. A análise revelou um tempo de retenção de aproximadamente 12 minutos para o CBD e aproximadamente 18 minutos (Figura 4) para o CBN no método cromatográfico utilizado. Os máximos de absorção ocorrem em 196 e 211 nm, para CBD, e em 220 e 282 nm, para CBN (Figura 5), sendo utilizados ambos os comprimentos para a quantificação dos canabinoides. Essas condições foram utilizadas na construção das curvas de calibração de cada composto.

As curvas de calibração de CBD e CBN (Figura 5) foram lineares entre 1 e 100 µg/mL ($R^2 > 0,99$). Os pontos ficaram bem ajustados à reta, mostrando que a área aumenta proporcionalmente à concentração na faixa. As barras de desvio padrão foram pequenas, por isso, não estão perceptíveis nos dois gráficos, indicando boa repetibilidade entre as réplicas e estabilidade do sistema durante as análises. Assim, a faixa de 1 a 100 µg/mL se mostrou adequada para a quantificação de CBD e CBN nas amostras.



Figura 4: Cromatograma e espectros dos padrões de CBD e CBN (100 µg/mL) obtidos com o CLAE.

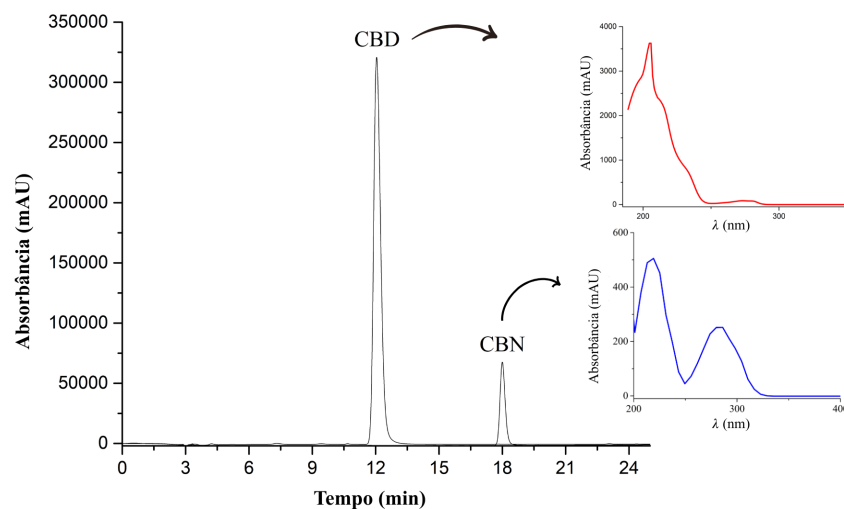
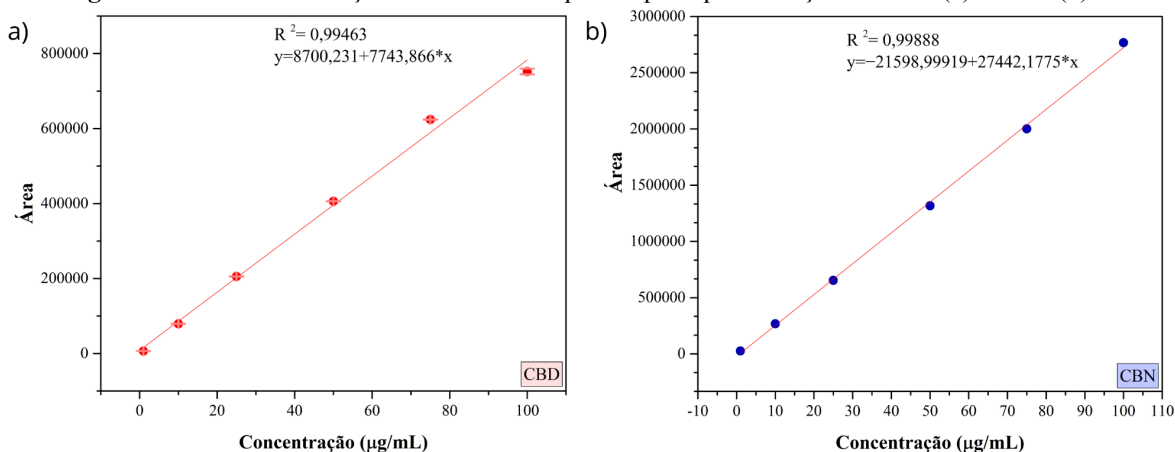


Figura 5: Curva de calibração com os desvios padrão para quantificação do CBD (a) e CBN (b).



Nos resultados do 1º planejamento (Tabela 1 e Figura 6), todos os parâmetros variados na mecanoquímica forneceram concentrações de CBD superiores ao método da Farmacopeia (1,69 µg/mg). O menor aumento absoluto em relação à Farmacopeia ocorreu com 5 minutos e nível 3 de agitação, sendo de 0,23 µg/mg. As principais diferenças foram observadas nos procedimentos de 5 e 15 minutos com nível de agitação igual a 8, com aumentos de 0,72 e 0,71 µg/mg, respectivamente (Tabela 1 e Figura 6). Os resultados sugerem que aumentar o nível de agitação tende a aumentar a extração de CBD, enquanto prolongar o tempo de homogeneização de 5 para 15 minutos, quando já se adota um nível alto de agitação, não causa mudanças na concentração de CBD extraído.

As concentrações de CBN obtidas por mecanoquímica foram menores do que as obtidas pelo método da Farmacopeia (1,72 µg/mg) (Tabela 1). Isso pode ser interpretado positivamente, uma vez que o CBN está correlacionado com a degradação do THC, de modo



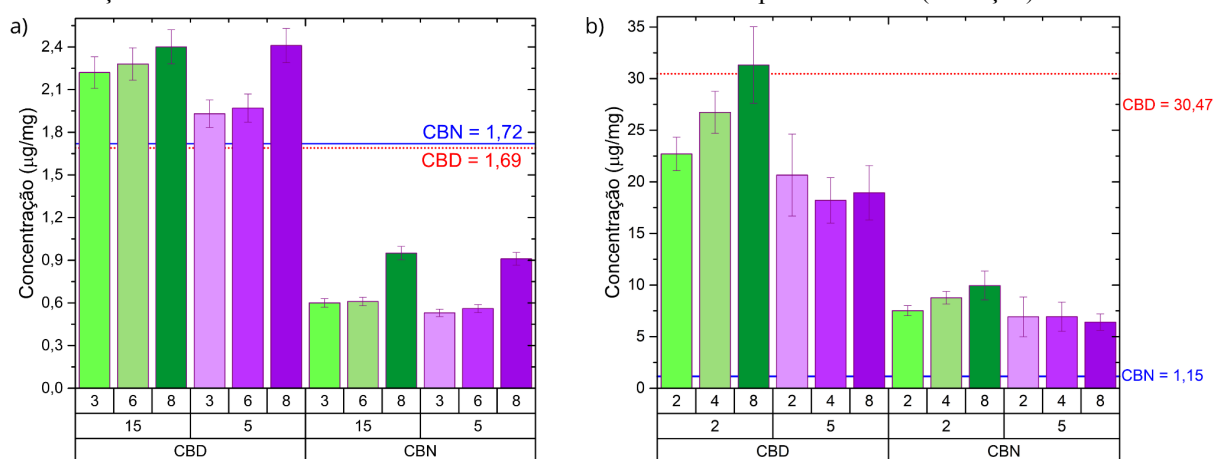
que a concentração de CBN pode aumentar à medida que o THC se degrada (Zamengo *et al.*, 2019).

Tabela 1: Quantificação dos fitocanabinoides (em μg de canabinoide/mg de amostra) por mecanoquímica no 1º planejamento (com tempos de 2 e 15 minutos com os níveis de agitação iguais a 3, 6 e 8) e no 2º planejamento (tempos de 2 e 5 minutos com os níveis de agitação iguais a 2, 4 e 8). É apresentado o resultado obtido com o método da Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2024). As plantas utilizadas no 1º e no 2º planejamento foram diferentes, por isso, as concentrações variaram.

1º Planejamento							
Compostos	5 Minutos			15 Minutos			Farmacopeia
	3	6	8	3	6	8	
CBD (média $\pm$ DP)	1,93 $\pm$ 0,16	1,97 $\pm$ 0,005	2,41 $\pm$ 0,04	2,22 $\pm$ 0,17	2,28 $\pm$ 0,21	2,40 $\pm$ 0,005	1,69 $\pm$ 0,08
CBN (média $\pm$ DP)	0,53 $\pm$ 0,04	0,56 $\pm$ 0,02	0,91 $\pm$ 0,01	0,60 $\pm$ 0,06	0,61 $\pm$ 0,06	0,95 $\pm$ 0,08	1,72 $\pm$ 0,17
2º Planejamento							
Compostos	2 Minutos			5 Minutos			Farmacopeia
	2	4	8	2	4	8	
CBD (média $\pm$ DP)	22,70 $\pm$ 1,62	26,74 $\pm$ 2,03	31,32 $\pm$ 3,70	20,66 $\pm$ 3,97	18,20 $\pm$ 2,20	18,94 $\pm$ 2,63	30,47 $\pm$ 2,08
CBN (média $\pm$ DP)	7,51 $\pm$ 0,49	8,77 $\pm$ 0,62	9,95 $\pm$ 1,40	6,92 $\pm$ 1,92	6,93 $\pm$ 1,41	6,40 $\pm$ 0,80	1,15 $\pm$ 0,75



Figura 6: Concentrações (em $\mu\text{g}/\text{mg}$) de CBD e CBN obtidas no 1º (a) e 2º (b) planejamento utilizando a mecanoquímica com diferentes níveis de agitação e tempo. As linhas horizontais em vermelho e azul indicam as concentrações de CBD e CBN obtidas utilizando o método da Farmacopeia Brasileira (7ª edição).



No 2º planejamento, foi utilizada uma planta de diferente quimiotipo da obtida no 1º planejamento. As concentrações de CBD foram reduzidas ao utilizar 5 minutos de homogeneização e níveis mais elevados de agitação reduziram menos essa queda, mantendo valores mais próximos dos obtidos pelo método da Farmacopeia (Tabela 1 e Figura 6). Em particular, com 2 minutos de homogeneização e nível 8, a concentração de CBD ficou dentro da variação do desvio padrão da Farmacopeia, indicando que combinações de menor tempo com maior nível de agitação podem gerar resultados mais condizentes com a extração por ultrassom. Os níveis 2 e 4 com 2 minutos resultaram em concentrações menores, mas ainda mais próximas do que as observadas com 5 minutos (Tabela 1 e Figura 6).

Ainda no segundo planejamento, as concentrações de CBN foram maiores (entre 7,51 e 9,95 $\mu\text{g}/\text{mg}$) do que as observadas pelo método da Farmacopeia Brasileira (1,15 $\pm$ 0,75 $\mu\text{g}/\text{mg}$) (Tabela 1 e Figura 6). Esse resultado pode ser considerado desfavorável, por indicar que houve maior degradação de THC ou formação preferencial de CBN, sugerindo que as condições mecanicamente assistidas podem favorecer a transformação de THC a CBN sob certas combinações.

Portanto, a utilização de menores tempos e maiores níveis de agitação no moinho de bolas resulta na preparação de extratos com maiores concentrações de CBD. Contudo, dependendo da espécie de *Cannabis* utilizada, as concentrações de CBN podem ficar maiores ou menores do que as obtidas pelo método de ultrassom, tornando necessários mais estudos sobre as concentrações desse e de outros canabinoides, como o THC. Além disso, deve-se destacar que a mecanoquímica foi proposta neste trabalho como um método para preparação de extratos para quantificação voltada ao controle de qualidade e que pode ser distinto daqueles métodos empregados para a produção industrial de extratos de *Cannabis*. Logo, a escolha do método de extração deve ser orientada pelos objetivos específicos de cada etapa do processo, desde a caracterização analítica até a produção de insumos e formulações finais.

Conclusões



A mecanoquímica demonstrou potencial como estratégia alternativa de extração para doseamento dos canabinoides como o CBD e CBN em inflorescências de *Cannabis sativa* L. No primeiro planejamento experimental, todas as condições mecanoquímicas resultaram em maiores concentrações de CBD em comparação ao método de ultrassom proposto na 7ª edição da Farmacopeia Brasileira, especialmente nos maiores níveis de agitação. O prolongamento da homogeneização de 5 para 15 minutos não promoveu aumento relevante quando utilizada agitação elevada, indicando que a intensidade da agitação do moinho de bolas exerceu maior influência sobre a extração do que o tempo de processamento.

No segundo planejamento, realizado com outra variedade de *Cannabis*, a condição de 2 minutos e nível de agitação 8 apresentou resultado de CBD próximo ao método farmacopeico, reforçando o potencial de combinações entre menor tempo e maior intensidade de agitação. Entretanto, as maiores concentrações de CBN observadas nesse planejamento sugerem que as condições mecânicas, associadas às características da matéria-prima, podem interferir no perfil dos canabinoides.

Portanto, a mecanoquímica pode reduzir o tempo de preparo, favorecer a extração de CBD para fins analíticos e diminuir o consumo de solventes, tornando o processo mais eficiente e alinhado aos princípios da química verde. Essas vantagens tornam a técnica promissora para o controle de qualidade de compostos de *Cannabis*. Para trabalhos futuros, pretende-se ampliar o número de amostras, diferentes tempos e níveis de agitação, bem como investigar outros canabinoides, especialmente o THC e suas formas ácidas.

Agradecimentos

Agradecemos à FINEP, ao CNPq, à CAPES, à UFPE, o ICEIS, ao Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM), ao Laboratório de Metodologia e Síntese (LMS) e ao GPETCAM (Grupo de Pesquisa e Extensão Tecnológica em Cannabis Medicinal) pelo apoio à pesquisa.

Referências

- AKATAN, K. *et al.* Effect of the mechanical treatment on structural features of cellulose obtained from *Cannabis ruderalis* Janisch. **Oxidation Communications**, v. 44, n. 1, 2021.
- ANDRE, C. M.; HAUSMAN, J.; GUERRIERO, G. *Cannabis sativa*: the plant of the thousand and one molecules. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 19, 2016.
- ARFELIS, S. *et al.* Linking mechanochemistry with the green chemistry principles. **Heliyon**, v. 10, n. 14, 2024.
- BAO, N. *et al.* Mechanochemical-assisted extraction and biological activity research of phenolic compounds from lotus seedpod (*Receptaculum nelumbinis*). **Molecules**, v. 28, n. 24, p. 7947, 2023.
- BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira**. 7. ed. v. 1. Brasília, DF: ANVISA, 2024.
- CARVALHO, V. M. *et al.* Quantificação de canabinoides em extratos medicinais de *Cannabis* por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 43, n. 1, p. 90-97, 2020.



- CHAUTHE, S. K. *et al.* Quantitative NMR: an applicable method for quantitative analysis of medicinal plant extracts and herbal products. **Phytochemical Analysis**, v. 23, n. 6, p. 689-696, 2012.
- CUCCU, F. *et al.* Mechanochemistry: new tools to navigate the uncharted territory of “impossible” reactions. **ChemSusChem**, v. 15, n. 17, p. e202200362, 2022.
- DOWNER, E. J. Potencial anti-inflamatório dos terpenos presentes em *Cannabis sativa* L. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 11, n. 5, p. 659-662, 2020.
- FATHORDOOBADY, F. *et al.* Hemp (*Cannabis sativa* L.) extract: anti-microbial properties, methods of extraction, and potential oral delivery. **Food Reviews International**, v. 35, n. 7, p. 664-684, 2019.
- FERNÁNDEZ, N. *et al.* Development and validation of a GC-MS method for quantification of terpenes in cannabis oil (*Cannabis sativa* L.): application to commercially available preparations in Argentina. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 35, p. 100466, 2023.
- GUO, Z. *et al.* Mechanochemical-assisted extraction and hepatoprotective activity research of flavonoids from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) pomaces. **Molecules**, v. 26, n. 24, p. 7615, 2021.
- JULAKANTI, S. *et al.* Hempseed protein (*Cannabis sativa* L.): influence of extraction pH and ball milling on physicochemical and functional properties. **Food Hydrocolloids**, v. 143, p. 108835, 2023.
- KHAN, M. M. R. *et al.* Fineness of hemp (*Cannabis sativa* L.) fiber bundle after post-decortication processing using a planetary ball mill. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 25, n. 6, p. 827-834, 2009.
- MANO-SOUSA, B. J. *et al.* Validation of analytical method of cannabinoids: novel approach using turbo-extraction. **Talanta**, v. 254, p. 124108, 2023.
- NAHAR, L. *et al.* Extraction of naturally occurring cannabinoids: an update. **Phytochemical Analysis**, v. 32, n. 3, p. 228-241, 2021.
- NAVIGLIO, D. *et al.* Rapid solid-liquid dynamic extraction (RSLDE): a powerful and greener alternative to the latest solid-liquid extraction techniques. **Foods**, v. 8, n. 7, p. 245, 2019.
- NETO, J. A. *et al.* Phytochemical characterization of *Cannabis sativa* L. roots from Northeastern Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 20, n. 3, p. e202201039, 2023.
- OBREGON, R.; WANG, J. Mechanochemistry of cyclobutanes. **Science China Chemistry**, p. 1-10, 2024.
- OZER, D. Mechanochemistry: a power tool for green synthesis. In: *Advances in Green Synthesis: Avenues and Sustainability*. Cham: Springer International Publishing, 2021. p. 23-39.
- PAN, Z. *et al.* Disintegration of *Nannochloropsis* sp. cells in an improved turbine bead mill. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 641-648, 2017.
- REYNES, J. F.; LEON, F.; GARCÍA, F. Mechanochemistry for organic and inorganic synthesis. **ACS Organic & Inorganic Au**, v. 4, n. 5, p. 432-470, 2024.
- SÁENZ, J. J. T. *et al.* Mechanochemistry in Europe: where we come from and where we are now. **Open Research Europe**, v. 5, p. 73, 2025.
- SUN, X. Research progress on cannabinoids in *Cannabis* (*Cannabis sativa* L.) in China. **Molecules**, v. 28, n. 9, p. 3806, 2023.
- YING, P.; YU, J.; SU, W. Liquid-assisted grinding mechanochemistry in the synthesis of pharmaceuticals. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 363, n. 5, p. 1246-1271, 2021.
- ZAMENGO, L. *et al.* The role of time and storage conditions on the composition of hashish and marijuana samples: a four-year study. **Forensic Science International**, v. 298, p. 131-137, 2019.
- ZHENG, L. *et al.* Mechanochemical-assisted extraction and enzymatic hydrolysis of calcium phytate from defatted rice bran. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 53, 2023.