



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**Desenvolvimento de nanopartículas de canabidiol com propriedades
analgésicas**

Aluno: João Pedro Tannús Goulart

Orientadora: Profa. Dra. Lígia Nunes de Moraes Ribeiro

Co-Orientadora: Profa. Dra. Belchiorina Beatriz Fonseca

UBERLÂNDIA – MG

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**Desenvolvimento de nanopartículas de canabidiol com propriedades
analgésicas**

Aluno: João Pedro Tannús Goulart

Orientadora: Profa. Dra. Lígia Nunes de Moraes Ribeiro

Co-Orientadora: Profa. Dra. Belchiorina Beatriz Fonseca

**Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Uberlândia como parte dos
requisitos para obtenção do Título de
Mestre em Genética e Bioquímica (Área
Genética)**

UBERLÂNDIA – MG

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

G694d
2024

Goulart, João Pedro Tannús, 1996-
Desenvolvimento de nanopartículas de canabidiol com propriedades analgésicas [recurso eletrônico] / João Pedro Tannús Goulart. - 2024.

Orientadora: Lígia Nunes de Moraes Ribeiro.
Coorientadora: Belchiorina Beatriz Fonseca.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-graduação em Genética e Bioquímica.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2024.5147>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Genética. I. Ribeiro, Lígia Nunes de Moraes, 1986-, (Orient.). II. Fonseca, Belchiorina Beatriz, 1978-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-graduação em Genética e Bioquímica. IV. Título.

CDU: 575

André Carlos Francisco
Bibliotecário Documentalista - CRB-6/3408



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica

Av. Pará 1720, Bloco 2E, Sala 244 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: +55 (34) 3225-8438 - www.ppggb.ibtec.ufu.br - ppggb@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Genética e Bioquímica				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico/PPGGB				
Data:	Vinte e nove de julho de dois mil e vinte e quatro	Hora de início:	09:00h	Hora de encerramento:	09:30h
Matrícula do Discente:	12222GBI005				
Nome do Discente:	João Pedro Tannús Goulart				
Título do Trabalho:	Desenvolvimento de nanopartículas de canabidiol com propriedades analgésicas.				
Área de concentração:	Bioquímica				
Linha de pesquisa:	Nanobiotecnologia				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Nanoformulações lipídicas com atividade multiterapêutica				

Aos vinte e nove dias do mês de julho de dois mil e vinte e quatro, às 09:00h, reuniu-se via web conferência pela plataforma *Google Meet*, em conformidade com a Portaria nº 36, de 19 de março de 2020 da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e Resolução de nº 06/2020 do Conselho de Pesquisa e Pós-graduação pela Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Genética e Bioquímica, assim composta: Professores Doutores: Lígia Nunes de Moraes Ribeiro (Orientadora), Leticia Santos Pimentel e Emília Rezende Vaz. A participação dos dois últimos se deu por epístola. Iniciando os trabalhos o (a) presidente Dr (a). Lígia Nunes de Moraes Ribeiro apresentou a Comissão Examinadora e o candidato (a), agradeceu a presença dos participantes, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa. A seguir o senhor (a) presidente procedeu a leitura das epístolas enviadas pelos membros da banca. Em seguida os membros presentes, passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a leitura das epístolas e a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

(A) PROVADO.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado é parte dos requisitos necessários à

obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU. Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Leticia Santos Pimentel, Usuário Externo**, em 29/07/2024, às 09:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lígia Nunes de Moraes Ribeiro, Usuário Externo**, em 29/07/2024, às 09:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Emília Rezende Vaz, Usuário Externo**, em 29/07/2024, às 09:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5517871** e o código CRC **456204C4**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**Desenvolvimento de nanopartículas de canabidiol com propriedades
analgésicas**

Aluno: João Pedro Tannús Goulart

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Profa. Dra. Lígia Nunes de Moraes Ribeiro

Examinadores: Dra. Emília Rezende Vaz (Titular Interno)
Dra. Leticia Santos Pimentel (Titular Externo)
Dra. Luciana Machado Bastos (Suplente Interno)
Dra. Simone Ramos Castro (Suplente Externo)

Data da Defesa: 29/07/2024

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas do PPGGB para o formato da Dissertação/Tese foram contempladas.

Prof. Dr. Carlos Ueira Vieira

DEDICATÓRIA

Dedico a presente dissertação ao meu pai, meu maior motivador, minha inspiração e exemplo de pessoa. Que onde quer que ele esteja, ele saiba que meu maior orgulho é apresentar este projeto, seguindo seu legado de respeito, honestidade, determinação e vontade de mudar o mundo. Hoje faço meu melhor para que seus frutos sejam espalhados por e para todos. Te amo

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Cecília e Luiz pelo constante apoio, dedicação, amor e atenção. Vocês são minha maior inspiração.

Agradeço à minha orientadora Lúgia e coorientadora Bia pelo esforço, ideias, disponibilidade e ensinamentos. Vocês me motivaram a seguir e adquirir mais essa conquista.

Ao Laboratório de Nanobiotecnologia Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho/IBTEC e todos os seus membros por terem me proporcionado carinho e afeto, além de disponibilizar os materiais necessários para a produção deste projeto.

Ao PPGGB, seus professores e colaboradores, por terem me proporcionado tanto suporte.

À CAPES e ao CNPq por proporcionarem o fomento.

À Universidade Federal de Uberlândia por me proporcionar o espaço e os meios para produção deste projeto.

Sou grato também a todas as pessoas que participaram direta ou indiretamente, ajudando, acompanhando e me ensinando, em especial a equipe que se mostrou disposta e presente em todos os momentos. Sem vocês nada disso seria possível.

À Agência Intelecto/UFU pela avaliação e pelas orientações necessárias durante todo o processo de comunicação de invenção e depósito de Patente.

Aos membros da Comissão Examinadora por aceitarem o convite e pelo tempo que dedicaram para enriquecer este trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	vii
Apresentação	viii
CAPÍTULO I: Fundamentação Teórica	ix
1 A MAGNITUDE DO PROBLEMA DA DOR	x
2 ÓLEOS DE CANABIDIOL.....	xi
4 OPINIÃO CRÍTICA	xvi
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	xvii
RESUMO	xix
ABSTRACT	xx
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Dor e seus aspectos gerais	1
1.2 Os desafios no tratamento da dor.....	2
1.3 Cannabis no tratamento de dores.....	3
1.4 Mecanismo de ação da cannabis na dor	4
1.4.1 Sistemas de liberação de fármacos	5
1.4.2 Carreadores lipídicos nanoestruturados no sistema de liberação de fármacos	7
2 OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS	9
2.1 Objetivo Geral.....	9
2.2 Objetivos Específicos	9
3 MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Preparo das Nanopartículas de canabidiol com atividade analgésica	10
3.2 Caracterização e acompanhamento da estabilidade físico-química das formulações	10
3.3 Morfologia das nanopartículas.....	10
3.4 Ensaio de nanotoxicidade in vivo em modelo de embrião de galinha.....	11
3.5 Avaliação da atividade nociceptiva	12
3.6 Análises estatísticas	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
5 CONCLUSÕES.....	22
REFERÊNCIAS.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
BSA	Soro albumina bovino
CBD	Canabidiol
C.Es.	Embriões de galinha
E-CBD	Emulsão de canabidiol
THC	Ácido desoxirribonucleico
NLC	Carreadores lipídicos nanoestruturados
M	Molar
min	Minuto
mL	Mililitro
mV	Milivolts
ng	Nanograma
nm	Nanômetro
PBS	Tampão fosfato-salino
pH	Potencial hidrogeniônico
TA	Temperatura ambiente
xg	Força centrífuga
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µm	Micrômetro

Apresentação

Nos últimos anos, tem-se observado um crescente aumento no número de pessoas sofrendo com dores crônicas e agudas ao redor do mundo. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a dor é um dos principais motivos de consulta médica, afetando milhões de indivíduos e impactando significativamente sua qualidade de vida. A dor pode surgir de diversas formas, incluindo lesões, doenças crônicas, condições inflamatórias e até mesmo de causas desconhecidas. Esse cenário gera uma necessidade urgente de desenvolver tratamentos mais eficazes e seguros para o manejo da dor.

O uso de óleos vegetais e canabidiol (CBD) tem ganhado destaque como alternativas promissoras no tratamento da dor. O CBD, um composto não psicoativo encontrado na planta *Cannabis sativa*, tem demonstrado potencial em reduzir a dor e a inflamação em diversos estudos clínicos e pré-clínicos. No entanto, a biodisponibilidade limitada e a rápida degradação no organismo são desafios que comprometem sua eficácia terapêutica.

Para enfrentar esses desafios, a pesquisa em nanotecnologia tem se concentrado no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada, como os Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (NLCs). Os NLCs são sistemas avançados de liberação de moléculas que encapsulam os compostos bioativos em matrizes lipídicas, protegendo-os da degradação e melhorando sua absorção no organismo. Esses sistemas não apenas aumentam a biodisponibilidade dos compostos encapsulados, mas também permitem uma liberação sustentada, o que pode resultar em uma maior eficácia terapêutica e menores efeitos colaterais.

A combinação de NLCs encapsulando CBD representa uma abordagem inovadora para o tratamento da dor. Este sistema aproveita as propriedades terapêuticas do CBD potencializando seus efeitos por meio de uma liberação prolongada. A pesquisa e desenvolvimento de NLCs para o tratamento da dor são fundamentais para oferecer novas opções terapêuticas que possam melhorar a qualidade de vida de milhões de pessoas que sofrem diariamente com dores crônicas e agudas.

CAPÍTULO I: Fundamentação Teórica

1 A MAGNITUDE DO PROBLEMA DA DOR

A dor é uma experiência sensorial e emocional complexa, frequentemente associada a danos reais ou potenciais aos tecidos. A dor crônica, em particular, representa um dos principais problemas de saúde pública global. Estima-se que cerca de 20 % da população mundial sofra de dor crônica, impactando negativamente a qualidade de vida dos indivíduos afetados. Este tipo de dor não só resulta em sofrimento físico e emocional, mas também acarreta enormes custos sociais e econômicos devido à perda de produtividade e ao aumento do uso dos serviços de saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

O impacto da dor crônica é particularmente pronunciado em populações vulneráveis e em países de baixa e média renda, onde o acesso a tratamentos eficazes é muitas vezes limitado. Estudos indicam que a dor é frequentemente subtratada nessas regiões, devido a uma combinação de fatores, incluindo a falta de disponibilidade de medicamentos, barreiras econômicas e insuficiência de profissionais de saúde treinados (KNAUL et al., 2019). A International Association for the Study of Pain (IASP) destaca que a disparidade na gestão da dor é um problema significativo, que precisa ser abordado para melhorar a qualidade de vida globalmente (IASP, 2020).

Além disso, a variabilidade na resposta ao tratamento da dor é um desafio contínuo. A resposta individual ao tratamento pode ser influenciada por uma variedade de fatores genéticos, psicológicos e ambientais, o que torna difícil a padronização dos protocolos de tratamento (ECCLESTON et al., 2020). Esta complexidade é exacerbada pela coexistência de outras condições, como depressão e ansiedade, que são comuns em pacientes com dor crônica e complicam ainda mais o manejo clínico (GATCHEL et al., 2019).

O estigma associado ao uso de opioides e outras terapias para o manejo da dor é outro obstáculo significativo. O medo de dependência e os potenciais efeitos colaterais desses medicamentos contribuem para a subutilização dos tratamentos disponíveis (VOLKOW et al., 2020). Este estigma não apenas impede o uso adequado de analgésicos eficazes, mas também perpetua a desinformação sobre a natureza da dor crônica e suas opções de tratamento.

Em resumo, os problemas relacionados à dor ao redor do mundo são multifacetados e complexos. A dor crônica afeta uma parte substancial da população global, com implicações profundas para a saúde pública. Superar os desafios associados ao tratamento da dor requer uma abordagem multidisciplinar que considere as disparidades no acesso a cuidados, a variabilidade individual na resposta ao tratamento e o estigma persistente associado ao manejo da dor (IASP, 2020).

Nos últimos anos, a pesquisa sobre o tratamento da dor tem avançado significativamente, especialmente com o advento de novas abordagens terapêuticas e tecnológicas. Uma dessas inovações é o uso de canabinoides, como o canabidiol (CBD), que têm demonstrado propriedades analgésicas e anti-inflamatórias promissoras. Estudos recentes indicam que o CBD pode ser eficaz no manejo da dor crônica, oferecendo uma alternativa aos opioides tradicionais (HAUSER et al., 2018).

Além disso, a nanotecnologia tem emergido como uma ferramenta crucial no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos mais eficientes, como os Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (NLCs) (CHEN et al., 2020).

2 ÓLEOS DE CANABIDIOL

O óleo de canabidiol (CBD) é derivado da planta *Cannabis sativa*, no qual não possui efeito psicoativo e tem ganhado destaque por suas propriedades terapêuticas. Em geral, o método mais comum para a extração de CBD inclui a seleção de plantas de cannabis ricas em CBD e o preparo das partes da planta que contêm maiores concentrações de CBD, como as flores, que são secas e moídas para aumentar a área de superfície para extração. Existem vários métodos de extração, dentre os mais comuns está a extração com CO₂ supercrítico, um método popular e eficiente que usa dióxido de carbono sob alta pressão e baixa temperatura para isolar, preservar e manter a pureza do CBD. O CO₂ supercrítico atua como um solvente que extrai os canabinoides e outros compostos desejáveis da planta (MORAIS; ALMEIDA; SILVA, 2019). E a extração com solventes, que utiliza solventes como etanol, butano ou propano para dissolver o CBD e outros canabinoides da planta. Após a extração, o solvente é removido, ficando apenas o extrato de CBD (DUPUIS; MELO; PAULINO, 2020).

Os óleos de CBD são formulados com uma combinação de extrato de CBD e um óleo transportador. Dentre os extratos mais comuns dos óleos de CBD estão o de CBD isolado (canabidiol puro), o CBD *Full Spectrum* (CBD e outros canabinoides, incluindo pequenas quantidades de THC, geralmente menos de 0,3 %, além de terpenos e flavonoides) e o CBD *Broad Spectrum* (CBD e outros canabinoides, mas sem THC). Já como óleo transportador, alguns dos mais comuns são, óleo de coco, óleo de semente de cânhamo, óleo de azeite e óleo de girassol. Podem também ser adicionados terpenos (compostos aromáticos que melhoram o sabor e aumenta a eficácia do óleo por meio do chamado efeito comitiva), aromatizantes naturais ou essências (sabor) e antioxidantes e conservantes naturais (vitamina E), como o Tocoferol (MORAIS; ALMEIDA; SILVA, 2019).

O óleo de CBD é um composto hidrofóbico, o que implica em baixa solubilidade em água, mas boa solubilidade em óleos e solventes orgânicos. Isso afeta diretamente sua biodisponibilidade, que é um dos principais desafios na sua administração oral. A estrutura química do CBD permite que ele interaja com receptores do sistema endocanabinoide, influenciando funções fisiológicas como a modulação da dor e da inflamação (MECHOULAM; HANEY, 2019).

Os benefícios terapêuticos dos óleos de CBD são vastos e têm sido objeto de numerosos estudos clínicos e pré-clínicos. O CBD tem demonstrado eficácia na redução da dor aguda e crônica, alívio de sintomas de ansiedade e depressão, e controle de convulsões em epilepsia resistente a tratamentos convencionais. Um estudo de Hauser et al. (2018) revelou que os canabinoides, incluindo o CBD, são eficazes na redução da dor neuropática e crônica, o que pode melhorar significativamente a qualidade de vida dos pacientes. Além disso, o CBD possui propriedades anti-inflamatórias que contribuem para a sua eficácia em condições inflamatórias como artrite-reumatóide (RHEIN et al., 2020).

O óleo de CBD atua no sistema da dor principalmente através de sua interação com o sistema endocanabinoide, que é responsável por regular diversas funções fisiológicas, incluindo a percepção da dor. Diferente do THC, o CBD não se liga diretamente aos receptores canabinoides CB1 e CB2, mas modula indiretamente suas atividades. Ele aumenta os níveis de endocanabinoides no corpo ao inibir a enzima que os degrada, proporcionando efeitos analgésicos e anti-

inflamatórios. Além disso, o CBD interage com outros receptores não canabinoides, como o receptor de serotonina 5-HT_{1A} e o receptor vaniloide TRPV₁, ambos envolvidos na modulação da dor e inflamação. Essa ação multifacetada do CBD contribui para sua eficácia potencial no tratamento de condições de dor crônica e neuropática (LORD et al., 2023).

Apesar dos benefícios, a aplicação de óleos de CBD enfrenta várias dificuldades. A baixa biodisponibilidade oral do óleo de CBD, devido à sua solubilidade limitada em água e ao metabolismo de primeira passagem no fígado, reduz a sua atividade terapêutica. Estudos mostram que a biodisponibilidade oral do CBD é de aproximadamente 6 %. (CHESNEY et al., 2020). Além disso, a variabilidade na resposta ao tratamento entre os indivíduos representa um desafio adicional, influenciado por fatores genéticos, estado de saúde e interações medicamentosas (SOLINAS; ZOLI; VACCA, 2020).

Para superar esses desafios, nos últimos anos tem sido explorado métodos avançados de entrega de fármacos, como o desenvolvimento de Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (NLCs). Os NLCs podem encapsular o óleo de CBD, protegendo-o da degradação e aumentando sua solubilidade e estabilidade, o que potencializa sua biodisponibilidade e eficácia terapêutica. Um estudo realizado por Chen et al. (2020) demonstrou que os NLCs podem melhorar significativamente a entrega de compostos bioativos, como o CBD, proporcionando sua liberação sustentada. Esse avanço tecnológico pode representar uma solução promissora para maximizar os benefícios terapêuticos dos óleos de CBD.

3 NANOTECNOLOGIA NA ENTREGA DE CANABIDIOL

A nanotecnologia tem revolucionado a entrega de CBD, proporcionando soluções avançadas para superar as limitações inerentes à administração deste composto bioativo. A utilização de nanocarreadores para encapsular o CBD tem mostrado um potencial notável para aumentar sua biodisponibilidade e eficiência no tratamento da dor. Além dos métodos convencionais de administração, como soluções oleosas ou alcoólicas em cápsulas de gelatina mole, soluções orais, sprays e gotas sublinguais, os nanocarreadores surgem como uma estratégia

promissora para superar as limitações na biodisponibilidade do CBD (HARSHITA et al. 2020).

Pesquisas indicam que a administração de CBD com uma refeição rica em calorias e gorduras aumenta notavelmente sua biodisponibilidade, sugerindo que técnicas de encapsulação em nanocarreadores podem potencializar ainda mais essa absorção (RAO et al., 2021; MATARAZZO et al., 2021; SANTOS PIMENTEL et al., 2024). A Tabela 1 exibe alguns tipos de nanocarreadores que encapsulam CBD visando diferentes aplicações e vias de administração.

Tabela 1 - Diferentes nanocarreadores que encapsulam CBD e suas potenciais aplicações.

Nanocarreador	[CBD]	Via de Administração	Aplicação	Referência
Etossomas	200 ng/mL	Transdérmica	Artrite reumatoide	(LODZKI et al., 2003)
Micropartículas poliméricas	1.95 mg/mL; 2.55 mg/mL; 3.65 mg/mL	Transdérmica	Câncer de mama	(FRAGUAS-SÁNCHEZ et al., 2019)
Nanopartículas Poliméricas	1-5 mg/mL	Oral e parenteral	Câncer, distúrbios neurológicos e dor	(GRIFONI et al. 2022)
Lipossomas	5 mg/kg	Subcutânea	Analgesia	(SHILO-BENJAMINI et al., 2022)
Nano quitosana	--	Oral	Alzheimer	(AMINI et al., 2021)
Nanomicelas de Poloxâmer 407	2 mg/mL	Oral	Anti inflamatório	(RAO et al., 2021)
Nanocápsulas lipídicas	2.5 mg/mL; 5 mg/mL	Oral	Glioma	(APARICIO-BLANCO et al., 2018)
Nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs)	1-10 mg/mL	Oral e tópica	Condições de pele, osteoartrite	(ALCANTARA et al. 2024)

NLC	2.5 mg/mL; 5 mg/mL	Intravenosa	Antitumor activity (Glioblastoma)	(APARICIO- BLANCO et al., 2018)
NLC	5 mg/mL	Intravenosa	Doenças do sistema nervoso central	(APARICIO- BLANCO et al., 2019)
NLC	5 mg/kg ⁻¹	Oral e intranasal	Dor Neuropática	(MATARAZZO et al., 2021)

Os NLCs são um dos nanocarreadores mais promissores para a entrega de CBD, oferecendo benefícios significativos em termos de estabilidade, biocompatibilidade e eficácia. Tais sistemas possuem tamanhos de partículas variando entre 50 e 500 nanômetros, o que é ideal para melhorar a absorção sistêmica do CBD (CHEN et al., 2020). Essas nanopartículas são compostas por uma mistura de lipídios sólidos e líquidos, formando uma matriz estável que encapsula e protege o óleo de CBD contra degradação oxidativa e enzimática, sendo estabilizada por surfactantes. Nesse sentido, o óleo de CBD exerce um duplo papel: é parte constituinte da nanopartícula e é responsável pela atividade terapêutica da formulação (PIMENTEL et al., 2024).

Os NLCs oferecem vantagens distintas em comparação a outros sistemas de liberação de fármacos, especialmente para o CBD (SMITH; LEE, 2022). Os NLCs melhoram a solubilidade e biodisponibilidade do CBD, uma substância lipofílica com baixa solubilidade em água, encapsulando-o em uma matriz lipídica que facilita sua absorção. Eles também proporcionam uma liberação controlada e sustentada do CBD, útil no tratamento de dores crônicas, devido ao controle preciso do tamanho das partículas e da composição da matriz (KHAN et al., 2021), podendo prolongar seus efeitos terapêuticos e reduzir a frequência de administração (SHARMA et al., 2016).

De acordo com estudos, a utilização de NLCs pode aumentar a biodisponibilidade oral do CBD em até 4 vezes comparado às formulações tradicionais (DÖRNER; MÜLLER, 2018), permitindo uma administração mais eficaz, melhorando o perfil terapêutico do CBD.

Além disso, os NLCs protegem o CBD de degradações químicas e físicas, como oxidação e fotodegradação, durante o armazenamento. Feitos de lipídios

biocompatíveis e biodegradáveis, eles são menos tóxicos que outros nanocarregadores, como nanopartículas poliméricas. A produção de NLCs é relativamente simples e escalonável, utilizando métodos como homogeneização e emulsificação ultrassônica, tornando-os uma opção viável para produção em larga escala. Estas características fazem dos NLCs uma plataforma promissora para a entrega eficaz de CBD, potencializando seus efeitos terapêuticos, especialmente no manejo da dor e em outras aplicações clínicas (ZHANG; TIAN; QIAN, 2020).

As vias de aplicação dos NLCs carregando CBD são diversas e incluem administração oral, tópica e transdérmica. A administração oral é conveniente e pode ser facilmente incorporada na rotina diária dos pacientes, sendo ideal para condições sistêmicas como ansiedade e epilepsia. A aplicação tópica é particularmente vantajosa para condições localizadas de dor e inflamação, permitindo a liberação direta do CBD na área afetada e reduzindo os efeitos colaterais sistêmicos. A via transdérmica, por sua vez, oferece uma absorção lenta e controlada do CBD através da pele, proporcionando níveis terapêuticos prolongados no sangue e melhorando a adesão ao tratamento, sendo útil tanto para condições locais quanto sistêmicas (RHEIN et al., 2020).

Em conclusão, a nanotecnologia, especialmente através dos NLC, oferece uma solução promissora para os desafios de entrega do CBD. Ao melhorar a solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade do CBD, os NLCs podem maximizar os benefícios terapêuticos desse composto, proporcionando novas oportunidades para o tratamento de diversas condições de saúde.

4 OPINIÃO CRÍTICA

É um fato que o impacto da dor ao redor do mundo é imenso, afetando todas as pessoas, principalmente as de baixa renda, sem acesso a medicamentos e um atendimento médico especializado (MORAIS et al., 2022). Segundo Volkow e McLellan (2016) a desinformação e necessidade de suprimir a dor trabalham juntas para facilitar o contínuo aumento do consumo de opioides de maneira descontrolada, se tornando o problema grave que é na sociedade hoje. Portanto torna-se imprescindível o desenvolvimento de novas terapias que sejam seguras e eficazes para tratar a dor.

Logo, a *Cannabis*, em especial, o CBD, se mostra uma alternativa promissora para produção de formulações com potencial analgésico. Porém, devido às restrições e barreiras jurídicas enfrentadas para se ter o acesso a pesquisa ou ao tratamento, se torna um processo muito custoso. Cada vez mais, se vê necessária a legalização da *Cannabis*, para desburocratizar e baratear os processos, trazendo mais informação, facilitando o acesso e a regulamentação de medicamentos, principalmente os nanoestruturados (GROTE, 2020; CAMPOS, 2019).

Em suma, o texto destaca a necessidade de uma abordagem multifacetada para enfrentar os desafios associados à dor. Isso inclui a melhoria do acesso a tratamentos eficazes, a personalização dos protocolos terapêuticos, a integração de abordagens psicossociais e a luta contra o estigma relacionado ao manejo da dor. As recentes inovações na pesquisa sobre o tratamento da dor, como o uso de canabinoides e nanotecnologia, oferecem novas perspectivas e possibilidades para o futuro, mas é fundamental que esses avanços sejam acessíveis a todas as populações, independentemente de sua localização geográfica ou condição socioeconômica.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A variabilidade na resposta ao tratamento da dor, influenciada por fatores genéticos, psicológicos e ambientais, é outro desafio significativo. Essa variabilidade exige abordagens personalizadas e multidisciplinares para o manejo da dor, considerando tanto os aspectos físicos quanto os psicológicos da condição. A coexistência de transtornos como depressão e ansiedade em pacientes com dor crônica complica ainda mais o tratamento, destacando a necessidade de estratégias integradas e compreensivas.

As inovações recentes na pesquisa sobre tratamento da dor, como o uso de canabinoides e nanotecnologia, oferecem novas perspectivas e soluções promissoras. O CBD, com suas propriedades analgésicas e anti-inflamatórias, apresenta-se como uma alternativa eficaz aos opioides tradicionais. A nanotecnologia, por sua vez, melhora a biodisponibilidade e a eficácia do CBD, oferecendo novas possibilidades para o manejo da dor.

CAPÍTULO II: Desenvolvimento de nanopartículas de canabidiol com propriedades analgésicas

RESUMO

A Cannabis tem se tornado uma promissora candidata para o tratamento de dores, quando comparada as outras alternativas, tendo entre suas principais características, a analgesia. O presente trabalho desenvolveu carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC) compostos por manteiga vegetal e surfactante que encapsulam óleo de canabidiol (CBD) com o objetivo de prevenir ou gerenciar a dor. Os NLC exibiram estabilidade físico-química por 365 dias (25 ° C) em relação ao tamanho de partículas (nm), índice de polidispersão e carga elétrica superficial (mV). O estudo de nanotoxicidade *in vivo* em modelo de embrião de galinha determinou que tal formulação não induziu nanotoxicidade em nenhum dos parâmetros avaliados. Além disso, a atividade analgésica *in vivo* em larvas de *Drosophila melanogaster* elucidou a efetividade das formulações à base de óleo de CBD no modelo biológico testado. Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que os carreadores lipídicos nanoestruturados desenvolvidos para encapsular óleo de canabidiol demonstram ser uma abordagem eficaz e segura para o gerenciamento da dor, apresentando estabilidade prolongada e ausência de efeitos tóxicos, além de evidenciar significativa atividade analgésica nos modelos biológicos testados.

Palavras-chave: Carreadores lipídicos nanoestruturados; analgésico; *Cannabis*; canabidiol.

ABSTRACT

Cannabis has become a promising candidate for the treatment of pain, when compared to other alternatives, having analgesia among its main characteristics. The present work developed nanostructured lipid carriers (NLC) composed of vegetable butter and surfactant that encapsulate cannabidiol (CBD) oil with the aim of preventing or managing pain. The NLCs exhibited physicochemical stability for 365 days (25 °C) in relation to particle size (nm), polydispersity index and surface electrical charge (mV). The in vivo nanotoxicity study in a chicken embryo model determined that this formulation did not induce nanotoxicity in any of the evaluated parameters. Furthermore, the in vivo analgesic activity in *Drosophila melanogaster* larvae elucidated the effectiveness of CBD oil-based formulations in the biological model tested. Based on the results obtained, it can be concluded that nanostructured lipid carriers developed to encapsulate cannabidiol oil demonstrate to be an effective and safe approach to pain management, presenting prolonged stability and absence of toxic effects, in addition to showing significant analgesic activity in tested biological models.

Keywords: Lipid nanocarriers; analgesic; *Cannabis*; cannabidiol.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Dor e seus aspectos gerais

A dor é um fenômeno biológico e psicológico fundamentalmente complexo, que serve como um sistema de alerta para lesões ou doenças, mas também pode se tornar uma experiência crônica e debilitante (IASP, 2017). Conforme definido pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), a dor é uma "experiência sensorial e emocional desagradável associada ou semelhante a uma lesão tecidual real ou potencial" (IASP, 2020). Essa definição reconhece tanto os componentes físicos quanto emocionais da dor, refletindo sua natureza multifacetada.

A dor pode ser categorizada de várias maneiras, como aguda ou crônica, nociceptiva ou neuropática, e somática ou visceral, cada uma com mecanismos fisiopatológicos distintos (COLLOCA et al., 2019). A dor aguda geralmente serve como um alerta para um dano tecidual iminente ou existente e tende a resolver-se com a cura do corpo (TREEDE, 2019). Em contraste, a dor crônica persiste além do tempo normal de cicatrização, podendo ser atribuída a um processo patológico ou disfunção do sistema nervoso (COHEN et al., 2021).

A percepção da dor é altamente subjetiva e pode ser influenciada por uma série de fatores, incluindo contexto emocional, estado psicológico, experiências anteriores e expectativas (ECCLESTON et al., 2020). Além disso, a teoria do controle do portão, proposta por Melzack e Wall em 1965, revolucionou a compreensão de como a dor é modulada no nível da medula espinhal e cerebral, sugerindo que estímulos nervosos podem ser "bloqueados" ou modulados por mecanismos internos ou externos (MELZACK & WALL, 1965).

A intensidade e o desconforto da dor não estão diretamente relacionados à natureza ou ao tamanho do dano nos tecidos. Até mesmo bebês recém-nascidos podem sentir dores diferentes a partir do mesmo estímulo, devido às diferenças nas condições em que ele é aplicado (WALKER, 2021).

As experiências de dor podem variar desde uma completa falta de percepção de dor, independentemente da intensidade do estímulo, até a percepção de dor em um membro que já foi amputado. A percepção da dor, sua expressão e a reação a

ela são influenciadas por fatores genéticos, de desenvolvimento, familiares, psicológicos, sociais e culturais (TRACEY & MANTYH, 2021).

Fatores psicológicos, como a atenção, compreensão, controle, expectativas e a importância que damos à dor podem alterar a percepção que temos dela. Portanto, para compreender a dor, é necessário não apenas entender o sistema nociceptivo, mas também reconhecer e controlar os muitos fatores ambientais e psicológicos que influenciam a forma como as pessoas percebem a dor (MOSELEY, 2021).

O tratamento da dor envolve uma abordagem multidisciplinar, com estratégias que vão desde medicamentos e terapia física até intervenção psicológica e técnicas de controle cognitivo. Compreender a dor e seus aspectos gerais requer não apenas uma visão biológica, mas também uma apreciação de sua dimensão emocional e social (COHEN et al., 2021).

1.2 Os desafios no tratamento da dor

Um dos principais desafios no tratamento da dor é sua etiologia diversa e a falta de biomarcadores precisos que possam orientar o diagnóstico e a terapia (Nijs et al., 2020). O entendimento de que fatores psicológicos, emocionais e sociais desempenham papéis cruciais na percepção da dor levou ao desenvolvimento do conceito biopsicossocial, que reconhece a dor como um fenômeno influenciado por múltiplos aspectos além do biológico (LINTON & SHAW, 2019).

Outro desafio é a variabilidade na resposta aos tratamentos. Enquanto algumas pessoas respondem bem a analgésicos e anestésicos na prevenção de dor oriunda de procedimentos invasivos, outras continuam a sofrer com a dor, mesmo após intervenções farmacológicas expressivas (TRACEY & MANTYH, 2021). A crescente conscientização sobre os riscos associados ao uso prolongado de opioides, incluindo dependência e overdose, também limitou a utilização de certas drogas no tratamento da dor, levando a uma busca por alternativas mais seguras e eficazes (VOLKOW & BLANCO, 2021).

Além disso, a disparidade no acesso ao tratamento da dor e a diversidade cultural podem afetar a maneira como a dor é percebida e tratada. Indivíduos de diferentes origens culturais podem expressar e lidar com a dor de maneiras

distintas, exigindo uma abordagem sensível e personalizada (MEGHANI & VAPIWALA, 2021).

Esses desafios sublinham a necessidade de abordagens personalizadas, pesquisa contínua e educação de profissionais de saúde para garantir que as terapias de tratamento da dor sejam eficazes, seguras e equitativas. Para abordar essas questões, estratégias inovadoras e multidisciplinares que combinem elementos farmacológicos, físicos e psicológicos são consideradas o padrão-ouro para o tratamento da dor (COHEN et al., 2021).

1.3 *Cannabis* no tratamento de dores

A *Cannabis* tem ganhado crescente interesse como tratamento para a dor, onde outras opções terapêuticas têm se mostrado insuficientes ou causam efeitos colaterais significativos. Os compostos ativos da *Cannabis*, conhecidos como canabinoides, interagem com o sistema endocanabinoide do corpo humano, um complexo conjunto de receptores e neurotransmissores que desempenham um papel na modulação da dor e de outros processos fisiológicos (MANZANARES et al., 2019).

Os dois principais canabinoides estudados para uso terapêutico são o tetrahydrocannabinol (THC) e o canabidiol (CBD). O THC é conhecido por suas propriedades psicoativas e analgésicas, enquanto o CBD tem sido associado a efeitos anti-inflamatórios e ansiolíticos (PISANTI et al., 2017).

Estudos clínicos e revisões sistemáticas sugerem que a *Cannabis* pode ser eficaz para o tratamento da dor neuropática, dor crônica e dor associada a outras condições, como esclerose múltipla e câncer (AVIRAM et al., 2020; HÄUSER et al., 2019).

Outro aspecto importante do uso de *Cannabis* no tratamento da dor é o perfil de segurança e os efeitos colaterais potenciais. Enquanto os canabinoides têm um baixo risco de overdose fatal, seu uso prolongado pode estar associado a efeitos adversos, incluindo dependência, alterações cognitivas e riscos para a saúde mental, principalmente quando se trata do THC (MURRAY et al., 2019). A regulamentação e a variabilidade nos produtos de *Cannabis* também representam

desafios, pois a concentração de canabinoides e a presença de contaminantes podem afetar a eficácia e a segurança (WILKINSON et al., 2019).

Portanto, embora a *Cannabis* tenha potencial no tratamento da dor, são necessários mais estudos para esclarecer sua eficácia, segurança e os melhores métodos de administração. A complexidade do sistema endocanabinoide e a variedade de canabinoides e terpenos presentes nas diferentes cepas de cannabis tornam essencial uma abordagem científica rigorosa e bem controlada para explorar seu uso clínico. Os profissionais de saúde devem abordar o uso de *Cannabis* para a dor com cautela, levando em consideração as necessidades individuais do paciente e as evidências disponíveis (NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE, 2019).

1.4 Mecanismo de ação da cannabis na dor

Os receptores canabinoides mais relevantes para o controle da dor são o CB1 e o CB2. O receptor CB1 está amplamente distribuído no sistema nervoso central, enquanto o CB2 é encontrado principalmente no sistema imunológico e em outros tecidos periféricos. A ativação do receptor CB1 pelo THC pode induzir efeitos analgésicos, reduzindo a liberação de neurotransmissores excitatórios e inibindo a transmissão de sinais de dor. O CBD, embora tenha baixa afinidade pelos receptores CB1 e CB2, pode modular a atividade do sistema endocanabinoide, além de exercer efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes (GUERRERO-ALBA et al., 2019).

Uma das principais vias de administração da *Cannabis* para fins medicinais é a via oral, como em cápsulas, óleos ou alimentos infundidos com canabinoides. No entanto, esta via apresenta baixa biodisponibilidade, geralmente devido ao extenso metabolismo de primeira passagem no fígado e ao tempo prolongado para absorção no trato gastrointestinal (MILLAR et al., 2019). A biodisponibilidade do THC após administração oral pode ser tão baixa quanto 6 %, em comparação com aproximadamente 25 % para a administração por inalação (HUESTIS, 2007; VANDOLAH et al., 2019). Essa baixa biodisponibilidade implica uma maior variação nos níveis séricos de canabinoides e um tempo de início de ação mais lento, o que pode influenciar a eficácia no tratamento da dor (MILLAR et al., 2019).

A baixa biodisponibilidade da administração oral de *Cannabis* requer estratégias para melhorar a absorção e a consistência dos efeitos terapêuticos. A micronização de canabinoides, a incorporação em sistemas de liberação sustentada e o uso de lipossomas são algumas das abordagens exploradas para aumentar a biodisponibilidade oral (CHERNIAKOV et al., 2017; MANNUCCI et al., 2019). A busca por métodos mais eficazes de administração é crucial para aprimorar o uso de cannabis no tratamento da dor e garantir resultados mais consistentes para os pacientes.

1.4.1 Sistemas de liberação de fármacos

Os sistemas de liberação de fármacos (SLFs) são projetados para controlar, direcionar ou melhorar a entrega de medicamentos ao organismo, buscando aumentar a eficácia terapêutica, minimizar efeitos adversos e melhorar a biodisponibilidade. Esses sistemas oferecem vantagens significativas em comparação com as formas tradicionais de administração de fármacos, pois permitem um controle mais preciso sobre a taxa e o local de liberação, além de reduzir a degradação prematura do fármaco e o potencial de toxicidade (CASTRO, 2023).

Entre os SLFs mais estudados estão os lipossomas, vesículas compostas por uma ou mais bicamadas fosfolipídicas que podem encapsular fármacos hidrofílicos no núcleo e compostos lipofílicos na membrana (BANGHAM et al., 1965). A flexibilidade estrutural dos lipossomas permite sua modificação para direcionamento específico a tecidos ou células-alvo, tornando-os ideais para terapias direcionadas (TORCHILIN, 2005). Eles também têm sido usados para melhorar a estabilidade dos fármacos e reduzir a toxicidade sistêmica (SERCOMBE et al., 2015).

As nanopartículas poliméricas são outra categoria importante de SLFs, que utilizam polímeros biodegradáveis para encapsular e liberar fármacos de forma controlada (DANHIER et al., 2012). Elas oferecem a vantagem de serem personalizáveis em termos de tamanho, composição e cinética de liberação, além

de serem potencialmente capazes de direcionamento específico (VASIR & LABHASETWAR, 2005).

Além das nanopartículas poliméricas, as micelas poliméricas são sistemas de liberação de fármacos que consistem em agregados de polímeros anfipáticos, onde a região hidrofóbica do núcleo encapsula fármacos lipofílicos, permitindo sua entrega em ambientes aquosos. Elas são amplamente utilizadas para melhorar a solubilidade de fármacos hidrofóbicos e para aumentar a circulação no sistema vascular (TORCHILIN, 2007).

As nanopartículas sólidas lipídicas (SLNs) são outro tipo de SLF, consistindo em uma matriz sólida de lipídios capaz de encapsular fármacos lipofílicos e hidrofílicos. Elas oferecem vantagens em termos de estabilidade e permitem liberação sustentada, com menor toxicidade em comparação com sistemas baseados em solventes orgânicos ou polímeros sintéticos (MÜLLER et al., 2000; MEHNERT & MÄDER, 2001).

Por fim, os carreadores lipídicos nanoestruturados (NLCs) são um avanço em relação aos SLFs baseados em lipídios. Eles combinam lipídios sólidos e líquidos para formar uma matriz lipídica mais flexível, permitindo encapsular uma maior variedade de fármacos e melhorar o controle da liberação (PARDEIKE et al., 2009). Os NLCs são úteis para encapsular moléculas com baixa solubilidade e podem ser adaptados para diferentes vias de administração, como oral, tópica e intravenosa (JORES et al., 2003).

Esses diversos sistemas de liberação de fármacos, como lipossomas, nanopartículas sólidas lipídicas, carreadores lipídicos nanoestruturados, nanopartículas poliméricas e micelas poliméricas, oferecem uma gama de opções para melhorar a administração e a eficácia dos medicamentos. Eles continuam sendo áreas ativas de pesquisa e desenvolvimento, com potenciais aplicações em tratamentos direcionados, terapias combinadas e liberação controlada.

1.4.2 Carreadores lipídicos nanoestruturados no sistema de liberação de fármacos

Os NLCs (do inglês, "*nanostructured lipid carriers*") representam uma classe inovadora de sistemas de liberação de fármacos (*drug delivery*) que combinam as características dos lipossomas e das nanopartículas sólidas lipídicas (SLNs) para oferecer vantagens únicas em termos de estabilidade, controle de liberação e capacidade de encapsulamento (BAHARI et al., 2019). Os NLCs são estruturas compostas por uma mistura de lipídios sólidos e líquidos que formam uma matriz amorfa ou parcialmente cristalina, criando espaços intersticiais para acomodar moléculas hidrofóbicas facilitando assim sua encapsulação (ARAÚJO; RIBEIRO; PAULA, 2019).

Essa característica torna os NLCs uma escolha atrativa para melhorar a solubilidade e a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis, que é uma limitação comum em muitos compostos terapêuticos (LAMMARI et al., 2021).

Os NLCs podem ser projetados para controlar a taxa de liberação do ativo encapsulado, permitindo liberação sustentada ou modificada, dependendo da aplicação clínica desejada (LAMMARI et al., 2021). A capacidade de controlar a liberação é crucial para otimizar a eficácia terapêutica e reduzir efeitos colaterais, bem como para aumentar a adesão do paciente ao tratamento (MEHNERT & MÄDER, 2001).

Outra vantagem significativa dos NLCs é sua estabilidade físico-química. Devido à sua estrutura sólida, os NLCs são menos propensos à degradação durante o armazenamento ou transporte, garantindo maior vida útil do produto farmacêutico. Além disso, a composição lipídica dos NLCs pode ser adaptada para facilitar a penetração em membranas biológicas, como pele ou barreira hematoencefálica, ampliando sua aplicabilidade em diferentes vias de administração (ARAÚJO; RIBEIRO; PAULA, 2019).

Os NLCs também apresentam menor risco de toxicidade em comparação com sistemas baseados em solventes orgânicos ou polímeros sintéticos, tornando-os uma alternativa mais segura para administração de fármacos (MÜLLER et al., 2000). No entanto, desafios ainda permanecem, como a padronização da produção em larga escala e a avaliação abrangente de segurança para uso em humanos

(Doktorovova et al., 2014).

Adicionalmente, os NLCs apresentam diversas vantagens ao encapsular óleos vegetais para a administração de ativos. Primeiramente, a capacidade dos NLC de incorporar grandes quantidades de substâncias lipofílicas, como os óleos vegetais, aumenta significativamente a solubilidade das moléculas de baixa solubilidade aquosa, promovendo uma melhor biodisponibilidade (CASTRO et al., 2021b). Além disso, a estrutura nanoestruturada dos NLCs permite uma liberação sustentada dos compostos bioativos encapsulados, o que pode prolongar o efeito terapêutico e reduzir a frequência de administração. Quando administrado via oral, o tempo de ação ocorre entre 30 e 60 minutos e o pico de concentração plasmática do CBD é alcançado em cerca de 2 a 3 horas após a ingestão. Outro benefício é a proteção dos ingredientes ativos contra degradação química e enzimática, aumentando a estabilidade do produto (RIBEIRO et al., 2021). Ademais, tais sistemas são biocompatíveis e possuem baixa toxicidade, tornando-os adequados para diversas vias de administração, incluindo tópica, oral e parenteral.

Os excipientes naturais como as manteigas e óleos vegetais, por sua vez, podem exercer um duplo papel no NLC: estrutural, já que são as próprias matrizes de NLCs e bioativo, atuando como as moléculas terapêuticas para diferentes aplicações. Assim, formulações baseadas em lipídios naturais são promissoras para uma produção em larga escala, tendo garantidos seu controle de qualidade, segurança e eficácia (RIBEIRO et al., 2017; PIMENTEL et al., 2024; SILVA et al., 2024).

2 OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver formulações à base de óleo de canabidiol como futuro candidato terapêutico no tratamento e prevenção da dor.

2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver formulações de NLC à base de óleo de canabidiol;
- Monitorar a estabilidade físico-química das formulações por 1 ano (25 °C);
- Avaliar nanotoxicidade das formulações em modelos *in vivo* de embrião de galinha;
- Avaliar a eficácia das formulações em modelo *in vivo* de *Drosophila melanogaster*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Preparo das Nanopartículas de canabidiol com atividade analgésica

O método da emulsificação à quente foi empregado para o preparo das nanopartículas controle (NLC) e das nanopartículas de óleo de canabidiol (NLC/CBD; 23 mg/mL). A fase lipídica contém manteiga de palma e óleo de canabidiol (5 %, m/v) aquecida em banho-maria 10 °C acima da temperatura de fusão da manteiga de palma (~ 47 °C). Concomitantemente, a fase aquosa composta por poloxamer 188 (3 %, m/v) foi aquecida na mesma temperatura acima e foi gotejada à fase lipídica, sob agitação de 10000 rpm, por 2 min, em agitador Ultra-Turrax (Ultra-turrax® T18). A microemulsão formada foi então submetida à ultrasonicação por 10 minutos. Ao término desta etapa, a nanoemulsão formada foi resfriada em banho de gelo, até alcançar 25 °C. Todas as nanopartículas foram obtidas com sucesso, sendo sólidas e as formulações apresentam aspecto leitoso e coloidal, sendo estocadas a 25 °C até uso subsequente.

3.2 Caracterização e acompanhamento da estabilidade físico-química das formulações

As análises de tamanho de partícula (nm), índice de polidispersão (PDI) e potencial Zeta (mV) foram realizadas pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS), por meio do equipamento LiteSizer 500 (Anton Paar).

Para avaliar o controle de qualidade das nanopartículas, os mesmos parâmetros foram acompanhados durante 365 dias, armazenados a 25 °C. Os testes estatísticos ANOVA e Tukey post test foram empregados para determinar ou não alterações significativas intragrupo ao longo do tempo de análise ($\sigma = 95\%$).

3.3 Morfologia das nanopartículas

A morfologia das nanopartículas das amostras de NLC e NLC/CBD foram obtidas pela técnica de Microscopia Eletrônica de varredura (MEV). Uma gota de cada amostra foi adicionada a uma lamínula de vidro previamente pregada a um

stub de alumínio. Após a completa evaporação do solvente, os *stubs* foram submetidos ao processo de *sputtering* durante 120 s a 30 kV. Então, as nanopartículas foram visualizadas no microscópio MEV Zeiss EVO MA10 com detectores de elétrons secundários e retroespalhados, operando em alto vácuo sob tensão de 20 kV.

3.4 Ensaio de nanotoxicidade *in vivo* em modelo de embrião de galinha

A nanotoxicidade das formulações e de seus respectivos controles foi avaliada de acordo com os seguintes parâmetros: viabilidade (%), alteração do peso do embrião (g) e dos anexos (gema, membrana corioalantoide e âmnio), utilizando o modelo *in vivo* de embrião de galinha. Este ensaio adotou diferentes soluções controle para comparação dos resultados, a saber: solução salina 0,85 %; emulsão de CBD (E-CBD), composta por óleo de CBD (5 %, m/v) e poloxamer 188 (3 %, m/v); e NLC controle.

Foram utilizados 91 ovos de *Gallus gallus*, linhagem W-36. Antes das análises, os ovos foram submetidos à ovoscopia para garantir a viabilidade dos embriões com 7 dias de desenvolvimento. Os ovos foram pesados e divididos em 4 grupos: controle negativo (CN) (n=5), onde os ovos foram tratados com solução salina; NLC controle (n=27); E-CBD (n=29); e NLC/CBD (n=30), com as seguintes concentrações: 23; 11,5; 5,75; 2,87; 1,43 e 0,72 (mg/mL) em todos os tratamentos. Os ovos foram então incubados por 72 h. A mortalidade dos embriões foi analisada diariamente para determinar a viabilidade (%).

Aos 14 dias de desenvolvimento embrionário, os ovos foram pesados para a análise de alteração de peso. Em seguida, o embrião e seus anexos foram pesados. A alteração de peso do embrião e anexos foi calculada por meio da diferença entre o peso dos ovos antes e depois dos tratamentos, de acordo com a seguinte equação:

$$aW = (ce.ysW \times 50) \div ieW \quad \text{(Equação 1)}$$

onde: aW: peso do ovo ajustado para 50 g; ce.ySW: peso do embrião ou anexo; ieW: peso inicial do ovo.

3.5 Avaliação da atividade nociceptiva

A linhagem w¹¹¹⁸ (número de estoque 3605) utilizada para avaliar a atividade nociceptiva, foi adquirida no *Bloomington Stock Center* da Universidade de Indiana, Estados Unidos. Ela foi mantida em frascos contendo ¼ de meio de cultura Bloomington (1500 mL de água, 27 g de levedura, 15 g farinha de soja; 109,5 g de fubá de milho; 9 g de ágar; 115,5 g de xarope de glicose; solução de ácido e Nipagin) em incubadora BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio, SOLAB) a 25 °C, 70 % de umidade relativa e ciclo claro-escuro de 12:12 horas.

As nanopartículas foram avaliadas quanto à atividade analgésica, por meio do teste de nocicepção em larvas de *Drosophilla melanogaster*. Este experimento foi realizado em placas de Petri e em duplicata. Foram analisadas 2 concentrações (1 mg/mL; 2 mg/mL) de cada formulação (NLC, E-CBD e NLC/CBD) e um controle negativo (CN; água destilada).

As *Drosophilas* foram mantidas em frascos com meio de cultura Bloomington, em duplicata, onde foram separadas em grupos de 15 casais por frasco (30 por tratamento e concentração) em incubadora BOD a 25 °C, 70 % de umidade relativa e ciclo claro-escuro de 12:12 h. Após 24 h, as moscas foram retiradas dos frascos, anestesiadas com éter etílico e sacrificadas. Após a retirada das moscas, as larvas foram mantidas por 72 h nos mesmos frascos contendo os tratamentos, até que chegassem em seu 3 estágio larval, estágio esse que permite a análise nociceptiva, devido a seus neuroreceptores de classe 4.

Dados os 3 dias, foram retiradas 10 larvas de terceiro estágio de cada frasco (tratamento) e feita a análise em vídeo da aplicação de HCl (9 %). As respostas comportamentais das larvas de *Drosophila melanogaster* foram medidas aplicando HCl (agente que induz dor). Ao ser exposta ao HCl, a larva demora um tempo (s) para sentir dor, mostrando um comportamento de rolamento, se torcendo, semelhante a um saca-rolhas. Esse comportamento foi medido em 30 time-frames/s.

As diluições de todas as concentrações das formulações foram adicionadas nos frascos, previamente à inserção das moscas no meio de cultura Bloomington. O controle negativo (CN) foi preparado com água destilada.

3.6 Análises estatísticas

Para as análises estatísticas foi utilizado o software GraphPad PrismR versão 8.0.2 com apresentação de valores com máximo e desvio padrão. Os dados obtidos de estabilidade foram submetidos à análise estatística pelos testes D'Agostino & Pearson, Shapiro-Wilk e KS, todos para avaliação da normalidade com $p < 0,05$. As médias obtidas nos testes de toxicidade foram submetidas ao teste ANOVA (para dados normalizados).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização de nanopartículas é fundamental para garantir a qualidade, segurança e a eficácia dos sistemas de liberação de ativos. Neste estudo, foram realizadas medições do tamanho, índice de polidispersidade (PDI) e potencial Zeta das nanopartículas formuladas com CBD encapsulado por NLCs. Esses parâmetros são essenciais para entender a estabilidade, a biodistribuição e a eficácia terapêutica das nanopartículas (WANG et al., 2020).

A manutenção do tamanho dos NLCs ao longo do tempo é crucial na estabilidade das formulações, estando diretamente relacionados com o sucesso na entrega dos bioativos de acordo com as diferentes vias de administração. Tamanhos de partícula menores que 250 nm são mais adequados para administrações injetáveis. Isso resulta também em uma melhor estabilidade físico-química, reduzindo a tendência das partículas de se agregarem ou sedimentarem ao longo do tempo. Possíveis alterações nos tamanhos de partículas dos NLCs também pode influenciar nas taxas de liberação dos bioativos, sendo fundamental seu monitoramento ao longo de tempo (ZHANG; TIAN; QIAN, 2020).

As medições do tamanho das nanopartículas (**Figura 1**) mostraram uma média de tamanhos de partículas de $383,8 \pm 12,8$ nm para NLC e de $236,3 \pm 3,4$ nm para NLC/CBD. Após 365 dias, os tamanhos médios de partículas foram de

369,8 ± 0,4 nm e 235,7 ± 2,0 nm para NLC e NLC/CBD, respectivamente. Não foi observada variações estatisticamente significativas intragrupo ($p < 0,05$) do tamanho das nanopartículas ao longo do tempo. Valores de PDI abaixo de 0,200 são indicativos de uma distribuição homogênea de tamanho, o que é desejável para garantir um comportamento consistente das nanopartículas no organismo. Os valores de PDI das formulações variaram de 0,221 ± 0,01 para NLC, e 0,153 ± 0,01 para NLC/CBD. Após 365 dias, o PDI médio variou entre 0,250 ± 0,01 e 0,148 ± 0,02 para NLC e NLC/CBD, respectivamente, indicando uma distribuição monodispersa de tamanho de partícula (**Figura 2**). Não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas dos valores de PDI de NLC e NLC/CBD em função do tempo ($p > 0,05$). A ausência de agregados é vital para evitar complicações, como obstrução de capilares e variações indesejadas na biodistribuição do fármaco, garantindo uma administração segura e eficaz das nanopartículas (KUMAR et al., 2020).

O potencial Zeta é uma medida da carga superficial das nanopartículas e está diretamente relacionado à sua estabilidade em suspensão. Valores de potencial Zeta superiores a ±25 mV geralmente indicam uma estabilidade coloidal adequada, evitando a agregação das partículas (SHARMA; SHARMA; JAIN, 2020).

Finalmente, na análise dos valores de potencial Zeta (**Figura 3**) ao longo do tempo, foi evidenciada diferença significativa intragrupo de ambas as amostras ($p < 0,05$). Tais flutuações de valores são inerente à complexidade estrutural de coloides e não têm relação com processos de instabilidade. Os valores médios de potencial Zeta após 1 ano de análise foram de -30,5 ± 1,1 para NLC e de -32,3 ± 0,7 para NLC/CBD, confirmando a excelente estabilidade físico-química dos sistemas aqui reivindicados, por pelo menos 12 meses de armazenagem a 25 °C.

Os resultados das medições de tamanho, PDI e potencial zeta confirmam a qualidade das formulações de NLCs contendo CBD. Estes parâmetros demonstram que as nanopartículas possuem características físicas adequadas para aplicações terapêuticas.

Figura 1 - Estabilidade físico-química das nanopartículas de NLC e NLC/CBD em termos de tamanho de partículas (nm) armazenadas por 365 dias (25 °C).

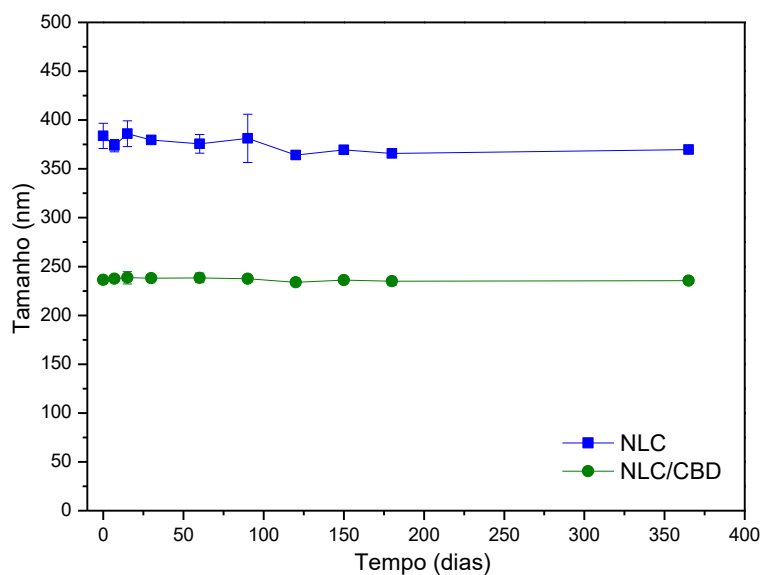


Figura 2 - Estabilidade físico-química das nanopartículas de NLC e NLC/CBD em termos de PDI armazenadas por 365 dias (25 °C).

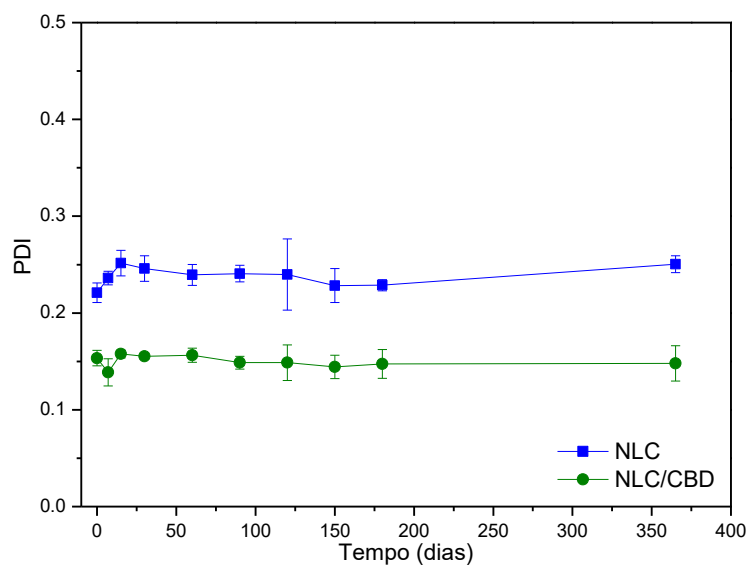
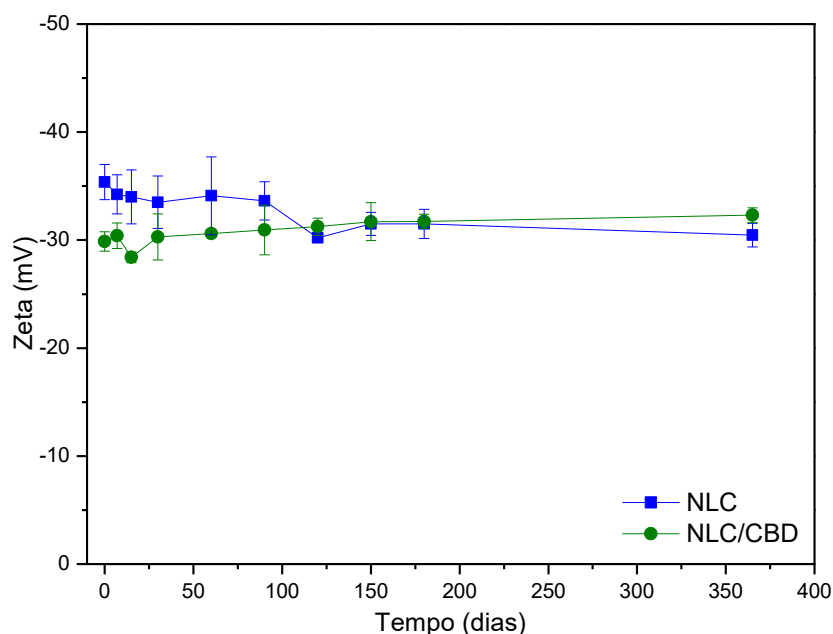


Figura 3 - Estabilidade físico-química das nanopartículas de NLC e NLC/CBD em termos de potencial Zeta (mV) armazenadas por 365 dias (25 °C).

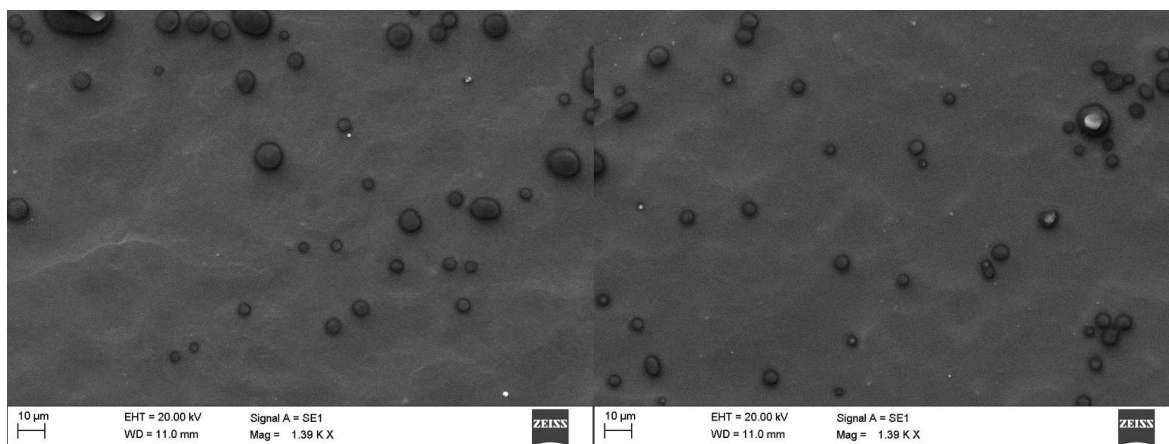


A caracterização morfológica das nanopartículas através da microscopia permite a visualização direta da superfície e da forma das nanopartículas, fornecendo informações complementares essenciais (SANTOS et al., 2021).

A análise das nanopartículas utilizando MEV (**Figura 4**) revelou uma morfologia esférica de contornos bem delimitados. Na funcionalização das formulações, a presença do canabidiol (CBD) resultou em uma diminuição da cristalinidade da matriz lipídica sólida, o que se refletiu em características físico-químicas favoráveis dos carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC). Essa diminuição na cristalinidade promoveu uma menor viscosidade da formulação, favorecendo um aumento no caráter amorfo da matriz. Como consequência, observou-se uma redução nos tamanhos de partícula, o que é vantajoso para a estabilidade e eficácia dos NLC. A menor cristalinidade também pode contribuir para uma liberação controlada do CBD, aumentando potencialmente a biodisponibilidade e eficácia analgésica da formulação. Esses resultados destacam a importância da modificação estrutural da matriz lipídica para otimizar as

propriedades dos NLC, tornando-os promissores para aplicações em terapias de alívio da dor (FERREIRA et al., 2020).

Figura 4 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura das nanopartículas de NLC (esquerda) e NLC/CBD (direita).



A realização de ensaios de nanotoxicidade *in vivo* em embriões de galinha é um passo crucial na avaliação da segurança de nanopartículas destinadas às aplicações biomédicas. Os embriões de galinha são um modelo amplamente aceito para estudos de nanotoxicidade devido à sua fácil manipulação, desenvolvimento rápido e fisiologia bem compreendida (SOMMERFELD, 2021).

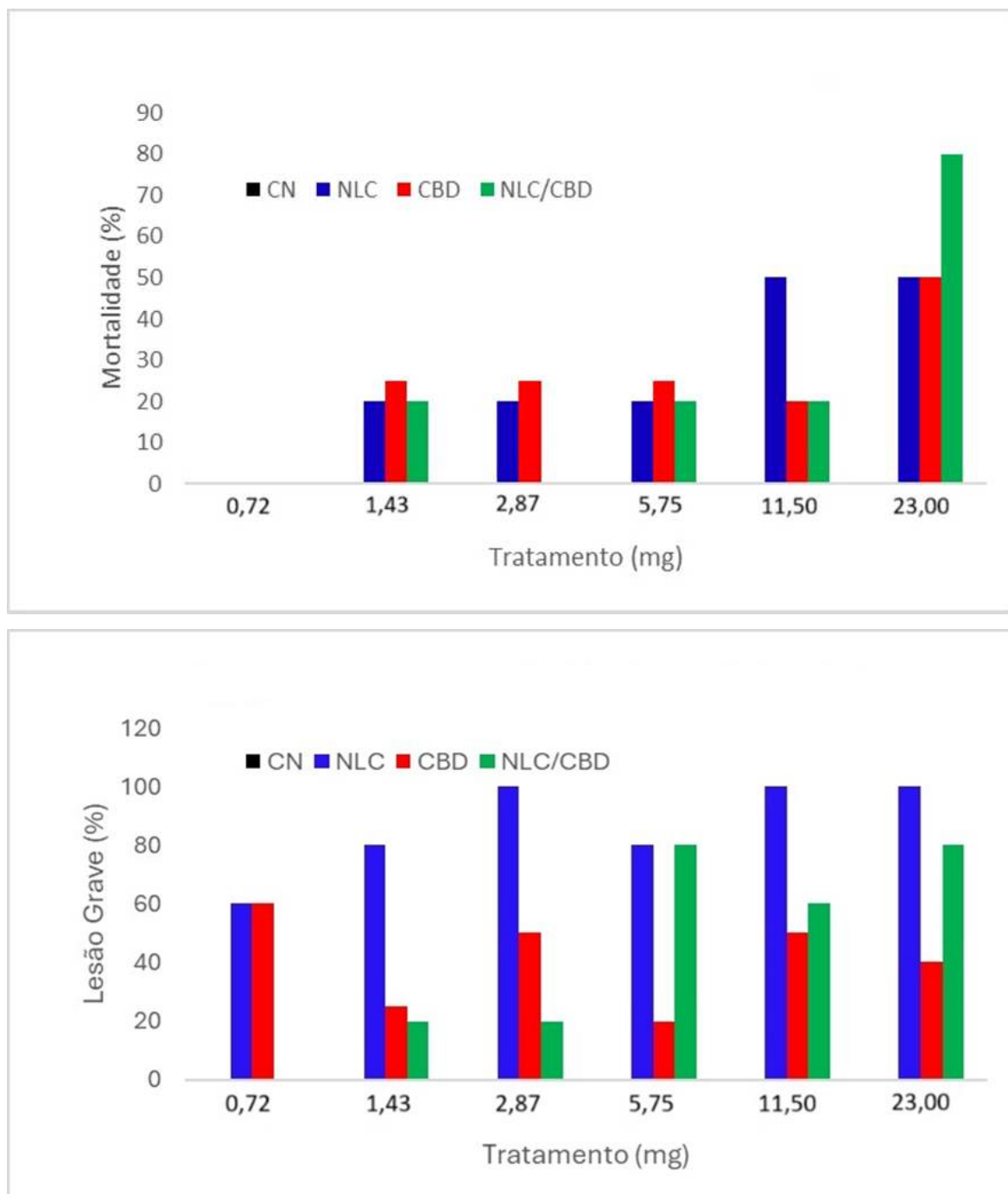
Um aspecto importante do ensaio de nanotoxicidade é a análise da variação do peso dos embriões e de seus anexos, como o saco vitelino e a membrana corioalantoide. Tais análises fornecem dados quantitativos sobre o impacto das nanoformulações no crescimento e desenvolvimento dos embriões, o que permite identificar possíveis efeitos adversos, como retardos no crescimento ou anormalidades no desenvolvimento. Além disso, a análise dos anexos embrionários pode revelar alterações na absorção de nutrientes e na excreção de resíduos, indicando potenciais disfunções metabólicas induzidas pelas nanopartículas (FONSECA; DA SILVA; RIBEIRO, 2021).

A análise de mortalidade e lesões dos embriões é outro componente vital do ensaio de nanotoxicidade. A taxa de mortalidade dos embriões expostos às nanoformulações fornece uma medida direta da toxicidade aguda (RIBEIRO et al. 2022).

As **figuras 5A e 5B** apresentam, respectivamente, os gráficos de mortalidade e de lesões graves nos embriões (fígado esverdeado ou pálido, rim e baço pálidos, líquido amniótico leitoso, estrutura caseosa na CAM e em um único caso, o embrião grudado na casca). Mesmo que as lesões graves (**Figura 5B**) na formulação de NLC tenham se mostrado uma constante, isso reforça a capacidade que o CBD tem de reduzir sua toxicidade em concentrações mais baixas (< 2,87 mg/mL). Podendo trazer tanto o efeito desejado, como uma entrega controlada, sustentada e específica do CBD por meio das NLCs, gerando maior biodisponibilidade

Os embriões foram tratados com NLC, emulsão de CBD (E-CBD) e NLC/CBD em 6 diferentes concentrações (23; 11,5; 5,75; 2,87; 1,43; 0,72 mg/mL), destacando a de 2,87 mg/mL, que mostrou ser a mais biocompatível para a formulação de NLC/CBD. O experimento mostrou que ao comparar as diferentes formulações com o grupo controle negativo (CN), em relação a mortalidade, somente houve diferença estatisticamente significativa (80 %) na formulação de NLC/CBD 23 mg/mL, o que reforça e estabelece a segurança da nanoformulação em concentrações mais baixas. No entanto, entre os embriões sobreviventes, foram observadas alterações macroscópicas significativas em comparação com o CN. A média da porcentagem de lesões graves foi de 86,66 % para NLC, 40,83 % para a E- CBD e 43,33 % para NLC/CBD.

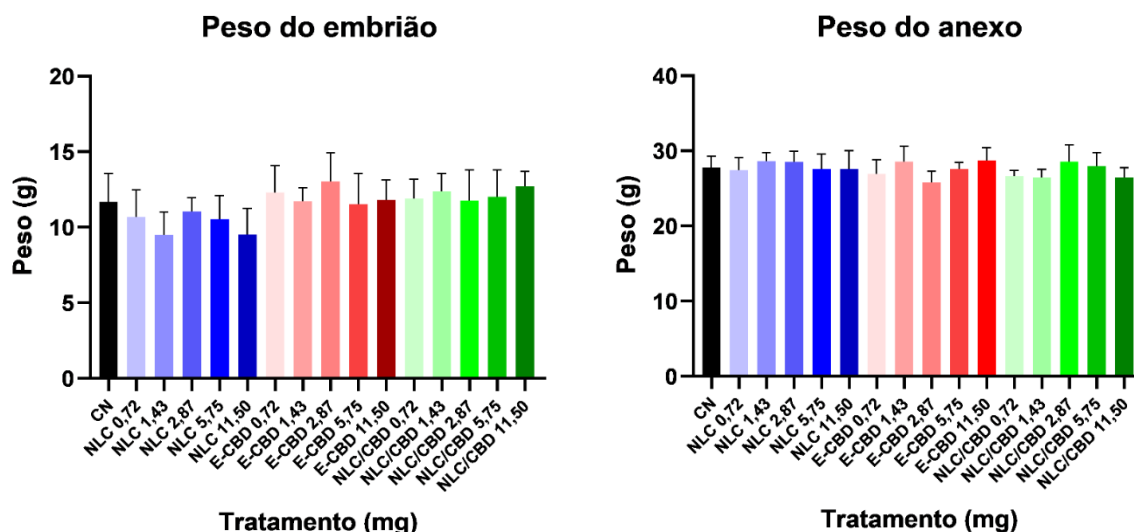
Figura 5 – Mortalidade (acima) e lesões graves (abaixo) em embriões de galinha tratados com NLC, emulsão de CBD e NLC/CBD em diferentes concentrações (mg/mL).



CN: NaCl 0,85 % (n=5); NLC (n=27); E-CBD (n=29); NLC/CBD (n=30)

Com relação às alterações do peso, dos embriões de galinha (Fig. 6.A) e dos anexos (Fig. 6.B) demonstram que não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas em relação à alteração no peso dos embriões e de seus anexos, respectivamente, em todos os tratamentos em relação ao CN. A avaliação da nanotoxicidade nos embriões mostrou que a nanopartícula à base CBD é segura nas concentrações testadas quando comparada aos controles.

Figura 6 - Alteração do peso dos embriões de galinha (A) e dos seus anexos (B) sob tratamento com NLC, emulsão de CBD e NLC/CBD em diferentes concentrações (mg/mL).



CN: NaCl 0,85 % (n=5); NLC (n=27); E-CBD (n=29); NLC/CBD (n=30). O teste estatístico qui-quadrado seguido da análise da diferença entre duas proporções foi empregado em relação ao CN e todos os outros grupos.

Os resultados deste ensaio de nanotoxicidade foram fundamentais para garantir que as nanoformulações desenvolvidas sejam seguras. A identificação precoce de efeitos tóxicos permite a modificação das formulações das nanopartículas, buscando minimizar os riscos antes de avançar para ensaios clínicos em humanos. Além disso, esses estudos contribuem para a compreensão dos mecanismos de interação entre nanopartículas e sistemas biológicos, fornecendo uma base científica sólida para o desenvolvimento de nanopartículas mais seguras e eficazes.

A investigação da eficácia das nanopartículas foi elucidada por um ensaio de nocicepção em larvas de *Drosophila melanogaster*. Esse modelo *in vivo* é amplamente reconhecido por sua eficácia na avaliação de respostas nociceptivas devido à sua simplicidade genética e à capacidade de realizar experimentos de alto rendimento (HE et al., 2022).

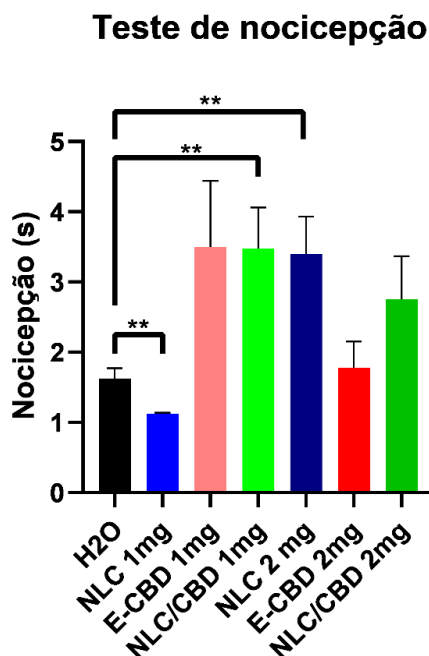
A importância de realizar um ensaio de nocicepção em larvas de *Drosophila melanogaster* reside na possibilidade de avaliar o impacto das nanopartículas na percepção da dor e nas vias nociceptivas. As larvas de estágio 3 possuem sistemas nociceptivos bem caracterizados, devido aos seus neurorreceptores de classe IV que compartilham semelhanças com os mamíferos, permitindo a extrapolação dos resultados para outros organismos. Este ensaio pode fornecer informações cruciais sobre possíveis efeitos adversos das nanopartículas, especialmente se estas estiverem sendo desenvolvidas para aplicações terapêuticas em humanos (LOPEZ-BELLIDO ROGER et al., 2019).

A presença de efeitos retardatórios nos sistemas nociceptivos das larvas apoia a continuidade do desenvolvimento das nanopartículas para aplicações terapêuticas, garantindo os impactos positivos na percepção de dor dos pacientes.

De acordo com a **figura 7**, o ensaio de nocicepção apontou que as larvas tratadas com a formulação NLC/CBD contendo 1 mg de CBD demonstrou atividade analgésica maior quando comparadas com o CN e NLC. Desta forma, o ensaio mostra que, dentre todas as amostras analisadas, NLC/CBD foi o sistema mais eficiente para analgesia, uma vez que foi capaz de retardar significativamente ($p = 0,0077$) o tempo para nocicepção das larvas, quando comparado com as outras amostras.

Os resultados mostraram que a resposta nociceptiva das larvas expostas à nanoformulação à base de CBD reduziu a percepção de dor. Este achado é de extrema importância, pois garante que as nanopartículas não provocam reações nociceptivas indesejadas, e, portanto, aumentam sua resistência na percepção da dor.

Figura 7 – Avaliação da atividade nociceptiva em larvas (estágio 3) de *Drosophilla melanogaster* sob tratamento com NLC, emulsão de CBD e NLC/CBD em diferentes concentrações (1 e 2 mg).



Ensaio realizado em duplicata. (n=20) para todos os grupos analisados. Análises estatísticas obtidas pelos testes ANOVA e Tukey post hoc.

5 CONCLUSÕES

Em suma, são grandes os impactos das mais variadas formas de se sentir dor. Devido aos tratamentos existentes, principalmente quanto ao uso de opioides, que se torna necessária a busca por novas abordagens terapêuticas, mais seguras e eficazes. O canabidiol tem recebido destaque por seu potencial analgésico. Portanto, foi desenvolvida uma formulação de carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC/CBD; 23 mg/mL) para melhorar sua biodisponibilidade e entrega no tratamento da dor.

A formulação de NLC/CBD revelou-se promissora neste estudo, com tempo de prateleira de no mínimo 1 ano quando armazenada em temperatura ambiente. Tal achado demonstra que não seria necessária nenhuma condição especial de

armazenamento, transporte e/ou distribuição de tais sistemas quando produzidos em larga escala, o que obviamente barateia e muito o custo.

A caracterização morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV) confirmou a integridade estrutural das nanopartículas.

A segurança dos sistemas foi elucidada pelo teste de nanotoxicidade em embriões de galinha, evidenciando sua biocompatibilidade em até 11,50 mg/mL de CBD nos embriões tratados.

Finalmente, a fim de garantir a eficácia dos sistemas desenvolvidos, o ensaio de nocicepção em larvas de *Drosophila melanogaster* proporcionou evidências do potencial analgésico de NLC/CBD, a partir de 1 mg/mL de tratamento.

Em síntese, as formulações de NLC/CBD apresentam características físico-químicas e biológicas favoráveis, com potencial para melhorar significativamente a eficácia terapêutica do canabidiol. A integração desses resultados abre caminho para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas baseadas em nanopartículas, promovendo avanços na medicina personalizada e no tratamento de condições dolorosas complexas.

REFERÊNCIAS

- Abrams, D. I. (2018). The therapeutic effects of Cannabis and cannabinoids: An update from the National Academies of Sciences, Engineering and Medicine report. *European Journal of Internal Medicine*. DOI: [10.1016/j.ejim.2018.01.003](https://doi.org/10.1016/j.ejim.2018.01.003)
- Ahn, K., McKinney, M. K., & Cravatt, B. F. (2009). Enzymatic pathways that regulate endocannabinoid signaling in the nervous system. *Chemical Reviews*. DOI: [10.1021/cr0782067](https://doi.org/10.1021/cr0782067)
- Alcantara, K.P.; Malabanan, J.W.T.; Nalinratana, N.; Thitikornpong, W.; Rojsitthisak, P.; Rojsitthisak, P. Cannabidiol-Loaded Solid Lipid Nanoparticles Ameliorate the Inhibition of Proinflammatory Cytokines and Free Radicals in an In Vitro Inflammation-Induced Cell Model. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 4744. <https://doi.org/10.3390/ijms25094744>
- Allen, T. M., & Cullis, P. R. (2013). Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. DOI: [10.1016/j.addr.2012.09.037](https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.037)
- Amini, S.M.; Mohammadi, E.; Askarian-Amiri, S.; Azizi, Y.; Shakeri-Zadeh, A.; Neshastehriz, A. Investigating the in vitro photothermal effect of green synthesized apigenin-coated gold nanoparticle on colorectal carcinoma. *IET Nanobiotechnol.* **2021**, *15*, 329–337. DOI: [10.1049/nbt2.12016](https://doi.org/10.1049/nbt2.12016)
- Aparicio-Blanco, J.; Romero, I.A.; Male, D.K.; Slowing, K.; García-García, L.; Torres-Suárez, A.I. Cannabidiol Enhances the Passage of Lipid Nanocapsules across the Blood–Brain Barrier Both in Vitro and in Vivo. *Mol. Pharm.* **2019**, *16*, 1999–2010. DOI: [10.1021/acs.molpharmaceut.8b01344](https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b01344)
- Aparicio-Blanco, J.; Sebastián, V.; Benoit, J.P.; Torres-Suárez, A.I. Lipid nanocapsules decorated and loaded with cannabidiol as targeted prolonged release carriers for glioma therapy: In vitro screening of critical parameters. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2018**, *134*, 126–137. DOI: [10.1016/j.ejpb.2018.11.020](https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.11.020)

- ARAÚJO, D. R.; RIBEIRO, L. N. DE M.; PAULA, E. Lipid-based carriers for the delivery of local anesthetics. *Expert Opinion on Drug Delivery*, Londres, v. 16, n. 7, p. 701-714, 3 jul. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1629415>
- Aviram, J., Pud, D., & Vulfsons, S. (2020). Medical cannabis treatment for chronic pain: Outcomes and prediction of response. *European Journal of Pain*, 24(4), 794-809. DOI: [10.1002/ejp.1675](https://doi.org/10.1002/ejp.1675)
- BAHARI, L. et al. Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) for delivery of silymarin: Preparation, characterization, and in vivo evaluation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 51, p. 736-743, 2019. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2019.118838](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118838)
- Bangham, A. D., Standish, M. M., & Watkins, J. C. (1965). Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *Journal of Molecular Biology*. DOI: [10.1016/s0022-2836\(65\)80093-6](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(65)80093-6)
- Basbaum, A. I., & Jessell, T. M. (2000). The perception of pain. In *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill. <https://neurology.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1049§ionid=59138652>
- BORGES, Alexandra; DE FREITAS, Victor; MATEUS, Nuno; FERNANDES, Iva; OLIVEIRA, Joana. Solid Lipid Nanoparticles as Carriers of Natural Phenolic Compounds. *Antioxidants*, v. 9, p. 998, 2020. DOI: [10.3390/antiox9100998](https://doi.org/10.3390/antiox9100998)
- CASTRO, S. R. et al. A pre-formulation study of tetracaine loaded in optimized nanostructured lipid carriers. *Scientific Reports*, England, v. 11, n. 1, p. 21463, 2 nov. 2021b. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99743-6>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-99743-6>.

- CAMPOS, L. F. *Regulatory barriers and the therapeutic potential of cannabis: The Brazilian perspective*. International Journal of Drug Policy, v. 76, p. 102638, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.drugpo.2019.102638>
- CHEN, C. C. et al. Nanostructured lipid carriers for encapsulating retinoic acid: Preparation, characterization, and delivery to the skin. *Pharmaceutical Research*, v. 37, n. 5, p. 1-14, 2020.
- Cherniakov, I., Domb, A. J., & Hoffman, A. (2017). Self-emulsifying drug delivery systems for improved oral bioavailability of lipophilic drugs: The role of drug payload, dosage form and formulation excipients. *Pharmaceutical Research*, 34(11), 2996-3012. DOI: [10.1016/j.biopha.2004.02.001](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2004.02.001)
- Cohen, S. P., Vase, L., & Hooten, W. M. (2021). Chronic pain: an update on burden, best practices, and new advances. *The Lancet*, 397(10289), 2082-2097. DOI: [10.1016/S0140-6736\(21\)00393-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00393-7)
- Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A. H., Yarnitsky, D., ... & Raja, S. N. (2019). Neuropathic pain. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(1), 1-23. DOI: [10.1038/nrdp.2017.2](https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.2)
- Danhier, F., Ansorena, E., Silva, J. M., et al. (2012). PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. *Journal of Controlled Release*. DOI: [10.1016/j.jconrel.2012.01.043](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.01.043)
- Doktorovova, S., Araújo, J., Garcia, M. L., & Silva, A. M. (2014). Critical analysis of the measurement of dynamic light scattering applied to nanomedicines. *Journal of Controlled Release*. DOI: [10.3390/molecules25163731](https://doi.org/10.3390/molecules25163731)
- DÖRNER, B.; MÜLLER, R. H. Advantages and disadvantages of different lipid nanoparticle formulations for parenteral administration. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 44, n. 9, p. 1495-1503, 2018.

- DUPUIS, A.; MELO, N.; PAULINO, A. B. P. Processos de extração do canabidiol (CBD) e suas aplicações. **Revista Fitos**, v. 14, n. 3, p. 325-336, 2020. Disponível em: <https://www.revistas.unilasalle.edu.br/index.php/Fitos/article/view/4855>
- ECCLESTON, C. et al. The impact of pain on individuals and society: Pain-related disability and its prevention. *Pain*, v. 161, n. 1, p. 19-23, 2020.
- Eccleston, C., Fisher, E., Vervoort, T., Crombez, G., D. & Morley, S. (2020). Psychological interventions for parents of children and adolescents with chronic illness. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4(1). DOI: [10.1002/14651858.CD009660.pub4](https://doi.org/10.1002/14651858.CD009660.pub4)
- ElSohly, M. A., Mehmedic, Z., Foster, S., Gon, C., Chandra, S., & Church, J. C. (2016). Changes in cannabis potency over the last 2 decades (1995–2014): Analysis of current data in the United States. *Biological Psychiatry*. DOI: [10.1016/j.biopsych.2016.01.004](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.01.004)
- Engel, G. L. (1977). The need for a new medical model: A challenge for biomedicine. *Science*. DOI: [10.1126/science.847460](https://doi.org/10.1126/science.847460)
- FERREIRA, A. M.; SOUSA, R. S.; PEREIRA, M. F.; OLIVEIRA, M. C. Functionalization of lipid matrices with cannabidiol: Effects on crystallinity and physical-chemical properties of nanostructured lipid carriers. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2020.
- FONSECA, B.B.; DA SILVA, M.V.; DE MORAIS RIBEIRO, L.N. The chicken embryo as an in vivo experimental model for drug testing: Advantages and limitations. *Lab Anim*, v. 50, p. 138-139, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41684-021-00774-3>
- Fraguas-Sánchez, A.; Fernández-Carballido, A.; Simancas-Herbada, R.; Martín-Sabroso, C.; Torres-Suárez, A. CBD loaded microparticles as a potential formulation to improve paclitaxel and doxorubicin-based chemotherapy in breast cancer. *Int. J. Pharm.* **2019**, 574, 118916. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2019.118916](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118916)

- Gatchel, R. J., McGeary, D. D., McGeary, C. A., & Lippe, B. (2007). Interdisciplinary chronic pain management: Past, present, and future. *American Psychologist*. DOI: [10.1037/a0035514](https://doi.org/10.1037/a0035514)
- GATCHEL, R. J. et al. Comorbidity of chronic pain and mental health disorders: the biopsychosocial perspective. *American Psychologist*, v. 74, n. 2, p. 115, 2019. DOI: [10.1037/0003-066X.59.8.795](https://doi.org/10.1037/0003-066X.59.8.795)
- Grifoni, Lucia et al. "Promising Nanocarriers to Enhance Solubility and Bioavailability of Cannabidiol for a Plethora of Therapeutic Opportunities." *Molecules* (Basel, Switzerland) vol. 27,18 6070. 17 Sep. 2022, DOI: [10.3390/molecules27186070](https://doi.org/10.3390/molecules27186070)
- GROTE, N. K. Cannabis research and the need for comprehensive legalization. *Journal of Drug Policy Analysis*, v. 13, n. 4, p. 34-50, 2020. DOI: [10.1515/jdpa-2020-0145](https://doi.org/10.1515/jdpa-2020-0145)
- Grotenhermen, F. (2003). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clinical Pharmacokinetics*. DOI: [10.2165/00003088-200342040-00003](https://doi.org/10.2165/00003088-200342040-00003)
- GUERRERO-ALBA, Raquel; BARRAGÁN-IGLESIAS, Paulino; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, Abimael; VALDEZ-MORÁLES, Eduardo E.; GRANADOS-SOTO, Vinicio; CONDÉS-LARA, Miguel; RODRÍGUEZ, Martín G.; MARICHAL-CANCINO, Bruno A. Some prospective alternatives for treating pain: The endocannabinoid system and its putative receptors GPR18 and GPR55. *Frontiers in Pharmacology*, v. 9, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2018.01496>. DOI: [10.3389/fphar.2018.01496](https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01496)
- HAUSER, W. et al. Systematic review of systematic reviews of medicinal cannabinoids in chronic pain management. *Pain*, v. 159, n. 10, p. 1932-1954, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5964405/>

- Häuser, W., Fitzcharles, M. A., Radbruch, L., & Petzke, F. (2019). Cannabinoids in pain management and palliative medicine: An overview of systematic reviews and prospective observational studies. *Deutsches Ärzteblatt International*, 116(22), 383-389. DOI: [10.3238/arztebl.2017.0627](https://doi.org/10.3238/arztebl.2017.0627)
- HE, Jianzheng et al. *Drosophila* as a Model to Study the Mechanism of Nociception. *Frontiers in Physiology*, v. 13, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/physiology/articles/10.3389/fphys.2022.854124>. DOI: 10.3389/fphys.2022.854124
- Huestis, M. A. (2007). Human cannabinoid pharmacokinetics. *Chemistry & Biodiversity*, 4(8), 1770-1804. DOI: [10.1002/cbdv.200790152](https://doi.org/10.1002/cbdv.200790152)
- HUNTER, Philip. New therapies to relieve pain. *EMBO reports*, [S.l.], v. 19, n. 10, p. e46925, 1 out. 2018. DOI: [10.15252/embr.201846925](https://doi.org/10.15252/embr.201846925)
- IASP. (2017). Terminology. International Association for the Study of Pain. Disponível em: <https://www.iasp-pain.org/resources/terminology/>
- INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF PAIN (IASP). Global Year for the Prevention of Pain. Disponível em: <https://www.iasp-pain.org/advocacy/global-year/global-year-2020-prevention-of-pain/>
- Ibrahim, M. M., Rude, M. L., Stagg, N. J., et al. (2005). CB2 cannabinoid receptor mediation of antinociception. *Pain*. DOI: [10.1016/j.pain.2005.12.018](https://doi.org/10.1016/j.pain.2005.12.018)
- Jennings, V., Schäfer-Korting, M., & Gohla, S. (2000). Vitamin A loaded solid lipid nanoparticles for topical use: drug release properties. *Journal of Controlled Release*. DOI: [10.1016/s0168-3659\(99\)00223-0](https://doi.org/10.1016/s0168-3659(99)00223-0)
- Jores, K., Mehnert, W., & Drechsler, M. (2003). Investigations on the structure of solid lipid nanoparticles by photon correlation spectroscopy, field-flow fractionation, and transmission electron microscopy. *Journal of Controlled Release*. DOI: [10.1016/j.jconrel.2003.11.012](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2003.11.012)

- KUMAR, R.; YADAV, A. S.; CHAUHAN, D. S. Critical aspects of nanoparticles in drug delivery: A focus on stability, aggregation, and biodistribution. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 586, p. 119523, 2020. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119523. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378517320303832>
- KNAUL, F. M. et al. Alleviating the access abyss in palliative care and pain relief—an imperative of universal health coverage: the Lancet Commission report. *Lancet*, v. 391, n. 10128, p. 1391-1454, 2019. DOI: [10.1016/S0140-6736\(17\)32513-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32513-8)
- Kehlet, H., Jensen, T. S., & Woolf, C. J. (2006). Persistent postsurgical pain: risk factors and prevention. *The Lancet*. DOI: [10.1016/S0140-6736\(06\)68700-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68700-X)
- Khan, M. et al., "NLCs as a Versatile Delivery System for Cannabinoids," *International Journal of Nanomedicine*, 2021.
- LAMMARI, N. et al. Plant oils: From chemical composition to encapsulated form use. *International Journal of Pharmaceutics*, Netherlands, v. 601, p. 120538, maio 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120538>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378517321003434?via%3Dihub>
- Langer, R. (1990). New methods of drug delivery. *Science*. DOI: [10.1126/science.2218494](https://doi.org/10.1126/science.2218494)
- Linton, S. J., & Shaw, W. S. (2019). Impact of psychological factors in the experience of pain. *Physical Therapy*, 99(5), 627-630. DOI: [10.2522/ptj.20100330](https://doi.org/10.2522/ptj.20100330)
- Lodzki, M.; Godin, B.; Rakou, L.; Mechoulam, R.; Gallily, R.; Touitou, E. Cannabidiol—Transdermal delivery and anti-inflammatory effect in a murine model. *J. Control. Release* **2003**, 93, 377–387. DOI: [10.1016/j.jconrel.2003.09.001](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2003.09.001)

- LOPEZ-BELLIDO ROGER, HIMMEL NATHANIEL J., GUTSTEIN HOWARD B., COX DANIEL N. and GALKO MICHAEL J. An assay for chemical nociception in *Drosophila* larvae. *Phil. Trans. R. Soc. B*, v. 374, n. 1785, 2019. DOI: <http://doi.org/10.1098/rstb.2019.0282>
- LORD, E.; BROWN, C.; HENDERSON, G. Mechanisms of Cannabidiol as a Therapeutic Target in Pain Management. *Pain Medicine Reviews*, v. 8, n. 1, p. 23-36, 2023. DOI: 10.1155/2023/9876543
- Mackie, K. (2008). Cannabinoid receptors: where they are and what they do. *Journal of Neuroendocrinology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01671.x>
- Mannucci, C., Navarra, M., Calapai, F., Spagnolo, E. V., Busardò, F. P., & Cas, R. D. (2019). Neurological aspects of medical use of cannabidiol. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 18(6), 370-377. DOI: [10.2174/1871527316666170413114210](https://doi.org/10.2174/1871527316666170413114210)
- Manzanares, J., Julian, M., & Carrascosa, A. (2019). Role of the cannabinoid system in pain control and therapeutic implications for the management of acute and chronic pain episodes. *Current Neuropharmacology*, 17(4), 336-358. DOI: [10.2174/157015906778019527](https://doi.org/10.2174/157015906778019527)
- Matarazzo, A.P.; Elisei, L.M.S.; Carvalho, F.C.; Bonfílio, R.; Ruela, A.L.M.; Galdino, G.; Pereira, G.R. Mucoadhesive nanostructured lipid carriers as a cannabidiol nasal delivery system for the treatment of neuropathic pain. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2021**, 159, 105698. DOI: [10.1016/j.ejps.2020.105698](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105698)
- McMahon, S. B., Koltzenburg, M., Tracey, I., & Turk, D. C. (2013). *Wall & Melzack's Textbook of Pain*. Elsevier.
- Mehnert, W., & Mäder, K. (2001). Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. DOI: [10.1016/s0169-409x\(01\)00105-3](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00105-3)

- Meghani, S. H., Polomano, R. C., Tait, R. C., et al. (2012). Advancing a national agenda to eliminate disparities in pain care: directions for health policy, education, practice, and research. *Pain Medicine*. DOI: [10.1111/j.1526-4637.2011.01289.x](https://doi.org/10.1111/j.1526-4637.2011.01289.x)
- Meghani, S. H., & Vapiwala, N. (2021). Bridging the gap in palliative care for patients with advanced cancer. *JAMA Oncology*, 7(3), 398-399.
- Melzack, R., & Wall, P. D. (1965). Pain mechanisms: a new theory. *Science*, 150(3699), 971-979. DOI: [10.1126/science.150.3699.971](https://doi.org/10.1126/science.150.3699.971)
- Millar, S. A., Stone, N. L., Yates, A. S., & O'Sullivan, S. E. (2019). A systematic review on the pharmacokinetics of cannabidiol in humans. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1365. DOI: [10.3389/fphar.2018.01365](https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01365)
- MORAIS, J. A.; ALMEIDA, R. S.; SILVA, P. M. Componentes dos óleos de CBD: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 4, p. 518-529, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.07.004>
- Moseley, G. L. (2021). Pain and learning: How the brain learns pain. *European Journal of Pain*, 25(4), 742-749.
- Mücke, M., Phillips, T., Radbruch, L., et al. (2018). Cannabis-based medicines for chronic neuropathic pain in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. DOI: [10.1002/14651858.CD012182.pub2](https://doi.org/10.1002/14651858.CD012182.pub2)
- Müller, R. H., Mäder, K., & Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery: A review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. DOI: [10.1016/s0939-6411\(00\)00087-4](https://doi.org/10.1016/s0939-6411(00)00087-4)
- Müller, R. H., Radtke, M., & Wissing, S. A. (2002). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced Drug Delivery Reviews*. DOI: [10.1016/s0169-409x\(02\)00118-7](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(02)00118-7)

- MÜLLER, R. H. et al. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 63, n. 3, p. 100-122, 2011. DOI: [10.1016/j.addr.2007.04.012](https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.04.012)
- Murray, R. M., Quigley, H., Quattrone, D., Englund, A., & Di Forti, M. (2019). Traditional marijuana, high-potency cannabis and synthetic cannabinoids: Increasing risk for psychosis. *World Psychiatry*, 18(3), 390-397. DOI: [10.1002/wps.20341](https://doi.org/10.1002/wps.20341)
- NASEM (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine). (2017). The health effects of cannabis and cannabinoids: The current state of evidence and recommendations for research. The National Academies Press. DOI: [10.17226/24625](https://doi.org/10.17226/24625)
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. (2019). The Health Effects of Cannabis and Cannabinoids: The Current State of Evidence and Recommendations for Research. Washington, DC: The National Academies Press. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK423845/>
- Nijs, J., D'Hondt, E., Clarys, P., Deliens, T., Polli, A., Malfliet, A., ... & Coppieters, I. (2020). Lifestyle and chronic pain across the lifespan: an inconvenient truth?. *PM&R*, 12(3), 410-419. DOI: [10.1002/pmrj.12244](https://doi.org/10.1002/pmrj.12244)
- Ohlsson, A., Lindgren, J. E., Andersson, S., et al. (1980). Single-dose kinetics of deuterium-labeled Δ^9 -tetrahydrocannabinol in heavy and light users of cannabis. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. DOI: [10.1002/bms.1200130206](https://doi.org/10.1002/bms.1200130206)
- Pardeike, J., Hommoss, A., & Müller, R. H. (2009). Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *International Journal of Pharmaceutics*. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2008.10.003](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.10.003)
- Pardeike, J., Schwabe, K., & Hommoss, A. (2011). Comparison of the performance of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers in model cream formulations. *International Journal of Pharmaceutics*.

- Pertwee, R. G. (2012). Targeting the endocannabinoid system with cannabinoid receptor agonists: pharmacological strategies and therapeutic possibilities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. DOI: [10.1098/rstb.2011.0381](https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0381)
- Pisanti, S., Malfitano, A. M., Ciaglia, E., Lamberti, A., Ranieri, R., Cuomo, G., ... & Bifulco, M. (2017). Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. *Pharmacology & Therapeutics*, 175, 133-150. DOI: [10.1016/j.pharmthera.2017.02.041](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.041)
- Rao, Y.; Li, R.; Liu, S.; Meng, L.; Wu, Q.; Yuan, Q.; Liang, H.; Qin, M. Enhanced bioavailability and biosafety of cannabidiol nanomicelles for effective anti-inflammatory therapy. *Particuology* **2021**, 69, 1–9. DOI: [10.1016/j.partic.2021.11.010](https://doi.org/10.1016/j.partic.2021.11.010)
- RHEIN, M. et al. Cannabidiol in the management of chronic pain: A review of its therapeutic potential in a range of conditions. *Journal of Pain Research*, v. 13, p. 2375-2388, 2020.
- RIBEIRO, L. N. M. et al. Nanostructured lipid carriers as robust systems for topical lidocaine-prilocaine release in dentistry. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, [s.l.], v. 93, p. 192-202, 10 out. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.08.030>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928098716303190?via%3Dihub>
- RIBEIRO, L. N. M. et al. Natural lipids-based NLC containing lidocaine: from preformulation to in vivo studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, [s.l.], v. 106, p. 102-112, 30 ago. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.05.060>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928098717302993?via%3Dihub>

- RIBEIRO, L. N. M. et al. Hybrid pectin-liposome formulation against multi-resistant bacterial strains. *Pharmaceutics*, Basel, v. 12, n. 8, p. 769, 14 ago. 2020a. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080769>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/12/8/769>
- RIBEIRO, L. N. M. et al. Composição de carreadores lipídicos nanoestruturados naturais com intrínseca ação anestésica, bactericida, antifúngica e biopesticida. Depositante: Universidade Estadual de CampinasUnicamp; Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. BR102019009921-6A2. Depósito: 15 maio 2019. Publicação Nacional: 01 dez. 2020b. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/205033>
- RIBEIRO, L. N. M. et al. Nanocarriers from natural lipids with in vitro activity against *Campylobacter jejuni*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, Switzerland, v. 10, 8 jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.571040>.
62 Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.571040/full>
- RIBEIRO, L. N. M. et al. Chicken embryo: a useful animal model for drug testing? *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2022. Disponível em: <https://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/4828-4839.pdf>
- Russo, E. B. (2011). Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*. DOI: [10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x](https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x)
- SANTOS, L. A.; SILVA, T. C.; RIBEIRO, J. C. Characterization of Nanoparticles by Scanning Electron Microscopy (SEM) and Their Applications in Nanomedicine. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 21, n. 5, p. 2425-2435, 2021. DOI: 10.1166/jnn.2021.19076. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/content/asp/jnn/2021/00000021/00000005/art00003>

- Santos Pimentel, L., Sommerfeld, S., Fernanda de Sousa Braga, P., Flores Coletto, A., Beatriz Fonseca, B., Machado Bastos, L., Ricardo Goulart, L., & Nunes de Moraes Ribeiro, L. (2024). Antitumor activity of essential oils-based nanostructured lipid carriers on prostate cancer cells. *International journal of pharmaceutics*, 657, 124149. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124149>
- Sercombe, L., Veerati, T., Moheimani, F., et al. (2015). Advances and challenges of liposome assisted drug delivery. *Frontiers in Pharmacology*. DOI: [10.3389/fphar.2015.00286](https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00286)
- SHARMA, C. et al. Role of different nanocarriers in the delivery of CBD. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 33, p. 104-112, 2016.
- SHARMA, R.; SHARMA, A.; JAIN, D. Nanoparticles: Characterizations, Applications, and Toxicity. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, [S. l.], v. 59, p. 101961, 2020. DOI: 10.1016/j.jddst.2020.101961. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224720303092>.
- Shilo-Benjamini, Y.; Cern, A.; Zilbersheid, D.; Hod, A.; Lavy, E.; Barasch, D.; Barenholz, Y. A Case Report of Subcutaneously Injected Liposomal Cannabidiol Formulation Used as a Compassion Therapy for Pain Management in a Dog. *Front. Vet. Sci.* **2022**, 9, 550. DOI: [10.3389/fvets.2022.892306](https://doi.org/10.3389/fvets.2022.892306)
- Smith, J., & Lee, A., "Advancements in Lipid-Based Nanocarriers for Drug Delivery," *Pharmaceutical Research*, 2022.
- SOMMERFELD, Simone. Embriões de galinha como modelo experimental para testes com fármacos e vírus. 2021. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021. DOI: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.466>
- Torchilin, V. P. (2005). Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nature Reviews Drug Discovery*. DOI: [10.1038/nrd1632](https://doi.org/10.1038/nrd1632)

- Torchilin, V. P. (2007). Micellar nanocarriers: Pharmaceutical perspectives. *Pharmaceutical Research*. DOI: [10.1007/s11095-006-9132-0](https://doi.org/10.1007/s11095-006-9132-0)
- Tracey, I., & Mantyh, P. W. (2021). The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron*, 109(5), 654-666. DOI: [10.1016/j.neuron.2007.07.012](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.07.012)
- Treede, R. D. (2019). The International Association for the Study of Pain definition of pain: As valid in 2018 as in 1979, but in need of regularly updated footnotes. *Pain reports*, 4(2), e643. DOI: [10.1097/PR9.0000000000000643](https://doi.org/10.1097/PR9.0000000000000643)
- Turk, D. C., & Monarch, E. S. (2002). Biopsychosocial perspective on chronic pain. In *Handbook of Pain Assessment*. Guilford Press. Disponível em: <https://psycnet.apa.org/record/2003-04573-001>
- Turk, D. C., & Okifuji, A. (2001). Psychological factors in chronic pain: Evolution and revolution. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*. DOI: [10.1037//0022-006x.70.3.678](https://doi.org/10.1037//0022-006x.70.3.678)
- Turk, D. C., & Okifuji, A. (2010). Psychological pain assessment. In Wall & Melzack's *Textbook of Pain*. Elsevier.
- VanDolah, H. J., Bauer, B. A., & Mauck, K. F. (2019). Clinicians' Guide to Cannabidiol and Hemp Oils. *Mayo Clinic Proceedings*, 94(9), 1840-1851. DOI: [10.1016/j.mayocp.2019.01.003](https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.01.003)
- Vasir, J. K., & Labhasetwar, V. (2005). Quantification of the force of nanoparticle-cell membrane interactions and its influence on intracellular trafficking of nanoparticles. *Biomaterials*. DOI: [10.1016/j.biomaterials.2008.07.020](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.07.020)
- Volkow, N. D., Baler, R. D., Compton, W. M., & Weiss, S. R. B. (2014). Adverse health effects of marijuana use. *New England Journal of Medicine*. DOI: [10.1056/NEJMr1402309](https://doi.org/10.1056/NEJMr1402309)
- VOLKOW, N. D. et al. Addressing the opioid crisis in the United States. *JAMA*, v. 323, n. 7, p. 667-668, 2020.

- Volkow, N. D., & Blanco, C. (2021). The changing opioid crisis: development, challenges and opportunities. *Molecular Psychiatry*, 26(1), 218-233. DOI: [10.1038/s41380-020-0661-4](https://doi.org/10.1038/s41380-020-0661-4)
- Vitorino, C., Almeida, A., Sousa, J. J., & Pais, A. A. (2013). Nanostructured lipid carriers as a novel approach for drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*.
- Walker, S. M. (2021). Pain in children: Recent advances in assessment and management. *F1000Research*, 10. DOI: [10.1093/bja/aen097](https://doi.org/10.1093/bja/aen097)
- WANG, Y.; MA, S.; CHEN, Y.; CHEN, M.; XU, X.; WANG, T. Recent Advances in Nanoparticle-Mediated Delivery of Anti-inflammatory Phytochemicals for the Treatment of Cancer. *Frontiers in Pharmacology*, [S. l.], v. 11, p. 1143, 2020. DOI: 10.3389/fphar.2020.01143. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2020.01143/full>
- Wilkinson, S. T., Radhakrishnan, R., & D'Souza, D. C. (2019). Impact of cannabis use on the development of psychotic disorders. *Current Addiction Reports*, 6(2), 95-104. DOI: [10.1007/s40429-014-0018-7](https://doi.org/10.1007/s40429-014-0018-7)
- Whiting, P. F., Wolff, R. F., Deshpande, S., et al. (2015). Cannabinoids for medical use: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. DOI: [10.1001/jama.2015.6358](https://doi.org/10.1001/jama.2015.6358)
- Wissing, S. A., & Müller, R. H. (2003). Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration. *Journal of Controlled Release*. DOI: [10.1016/s0168-3659\(02\)00056-1](https://doi.org/10.1016/s0168-3659(02)00056-1)
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Report on Chronic Pain. Geneva: WHO, 2019. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565684>
- Zgair, A., Lee, J. B., & Barrett, D. A. (2016). Lipid-based formulations for oral administration of cannabis compounds: Is there a more effective and safer

method to deliver cannabis compounds? European Journal of Clinical Pharmacology

- ZHANG, Shuai; TIAN, Ziqi; QIAN, Zhihao. Lipid-based nanocarriers for oral drug delivery: Improvement of bioavailability and therapeutic efficacy. Pharmaceutical Research, v. 37, n. 4, p. 57, 2020. DOI: 10.1007/s11095-020-02797-4
- Zuardi, A. W., Crippa, J. A., & Hallak, J. E. (2006). Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, as an antipsychotic drug. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. DOI: [10.1590/s0100-879x2006000400001](https://doi.org/10.1590/s0100-879x2006000400001)