



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FISIOTERAPIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

LUCIANA PAES GOMES

**EFEITO DO NUTRACÊUTICO CHRONIC® ASSOCIADO À FONOFORESE COM
NANOGELO CONTENDO EXTRATO DE *Cannabis sativa* L. SOBRE O REPARO DA
LESÃO MUSCULAR EM RATOS WISTAR**

Macapá

2026

LUCIANA PAES GOMES

**EFEITO DO NUTRACÊUTICO CHRONIC® ASSOCIADO À FONOFORESE COM
NANOGELO CONTENDO EXTRATO DE *Cannabis sativa* L. SOBRE O REPARO DA
LESÃO MUSCULAR EM RATOS WISTAR**

Projeto de pesquisa apresentado ao curso de Fisioterapia, do Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Amapá, como requisito para a conclusão da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho

Macapá

2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Aline Farias Bandeira Couto – CRB-2 1700/O

G633e Gomes, Luciana Paes.

Efeito do nutracêutico Chronic® associado à fonoforese com nanogel contendo extrato de Cannabis sativa L. sobre o reparo da lesão muscular em ratos Wistar / Luciana Paes Gomes. - Macapá-AP, 2026.

1 recurso eletrônico.
58 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) - Universidade Federal do Amapá, Macapá-AP, 2025..

Orientador: José Carlos Tavares Carvalho.

Modo de acesso: World Wide Web.

Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. Fisioterapia - Lesão muscular. 2. Extrato Vegetal - Cannabis sativa 3. Regeneração Tecidual.
I. Carvalho, José Carlos Tavares, orientador. II. Universidade Federal do Amapá. III. Título.

CDD 23. ed. – 615.82

GOMES, Luciana Paes Gomes. **Efeito do nutracêutico Chronic® associado à fonoforese com nanogel contendo extrato de Cannabis sativa L. sobre o reparo da lesão muscular em ratos Wistar.** Orientador: José Carlos Tavares Carvalho. 2026. 58 páginas f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) - Universidade Federal do Amapá, Macapá-AP, 2026.

LUCIANA PAES GOMES

**EFEITO DO NUTRACÊUTICO CHRONIC® ASSOCIADO À FONOFORESE COM
NANOGELO CONTENDO EXTRATO DE *Cannabis sativa* L. SOBRE O REPARO DA
LESÃO MUSCULAR EM RATOS WISTAR**

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Nayana Keyla Seabra de Oliveira

29/01/2026

Ma. Danna Emanuelle Santos Gonçalves

29/01/2026

Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho

29/01/2026

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e à Nossa Senhora de Nazaré por guiarem cada passo ao longo de cinco anos de graduação, ensinando-me a transformar as dificuldades em forças para seguir em frente.

Aos meus pais, Lígia de Brito Paes e Francisco Erinaldo Gomes Pedrada, que, debaixo do sol, fizeram-me chegar até aqui, na sombra. São o meu maior exemplo de força e resiliência. Obrigada pelo amor, cuidado e incentivo durante a minha caminhada, por serem meu alicerce e o amparo nos momentos difíceis. Amo vocês infinitamente.

À toda a minha família materna e paterna, pelo apoio constante e pelas palavras de incentivo. Em destaque, à minha avó Maria de Lourdes de Brito Paes (in memoriam) pelo cuidado, suporte e amor, e à minha avó Izabel Gomes pelo carinho e motivação. Gratidão também às minhas afilhadas, Maria Laís e Maria Luiza que ganhei durante esse período.

Aos amigos de infância e escola: João Pedro, Luma, Letícia, Ana Caroline e Laura pelo companheirismo. Aos amigos de estágio e turma que a Fisioterapia me presenteou, cada um foi essencial para tornar essa caminhada mais leve, significativa e de aprendizados. Em especial, à Ana Clara, ao Mayco e à Tainara, minhas duplas de trabalhos, atendimentos e apresentações durante os anos de graduação. Agradeço também ao projeto Respirair pelos aprendizados proporcionados, no qual floresceu um amor genuíno, por meio das experiências que marcaram a minha trajetória.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho, com quem tive a honra de ser orientanda desde o início da graduação, pelos ensinamentos e confiança, por despertar em mim o amor pela pesquisa científica, e, além disso, ao acolhimento na minha trajetória acadêmica. Ao Laboratório de Pesquisa em Fármacos, onde aprendi não apenas sobre ciência e vida profissional, mas também construí amizades que levarei para toda a vida. Especialmente, ao Prof. Dr. Helison Oliveira e à Dra. Aline Lopes que me orientaram para a escrita dos meus projetos, e foram grandes mentores na minha vida acadêmica, serei eternamente grata por todos os ensinamentos.

Por fim, agradeço aos colaboradores que tornaram este projeto possível: Prof. Dr. Helison Oliveira, Vinícius Vilhena, Alicia de Melo, Adrielly Santos, Marina Moraes, Bianca Ferreira, Danna Gonçalves, Gabriel Furtado, Heitor Silva, Dra. Aline Lopes e Prof. Dr. José Carlos Tavares.

RESUMO

Introdução: As lesões musculares por impacto desencadeiam um processo inflamatório que pode comprometer o reparo tecidual, tornando necessária a investigação de estratégias terapêuticas que favoreçam a regeneração muscular. Nesse contexto, o uso de compostos bioativos com propriedades anti-inflamatórias, associados a recursos fisioterapêuticos capazes de potencializar sua permeação tecidual, tem se mostrado promissor. **Objetivos:** Avaliar o potencial anti-inflamatório e o reparo da lesão muscular por meio da fonoforese da nanoemulsão do extrato de *Cannabis sativa* L. (NECS), incorporada em gel, associada ao tratamento oral com o óleo de *Bixa orellana* L. (Chronic®), em modelo experimental de ratos Wistar. **Material e Métodos:** Foi realizada análise química por cromatografia gasosa (CG-MS) do extrato de *Cannabis sativa* L. e do óleo de *Bixa orellana* L. (Chronic®), obtenção e avaliação da NECS com tamanho da partícula de 104.0 ± 1.3 , índice de polidispersão de 0.34 ± 0.03 e o potencial zeta de 4.48 ± 0.29 (30° dia), sendo posteriormente incorporada em gel Carbopol®. Para a realização experimental da lesão muscular traumática no músculo gastrocnêmio direito, utilizou-se 30 ratos Wistar divididos em 7 grupos experimentais, grupos, 1- NOR sem indução da lesão e tratamento, e os demais com indução da lesão, sendo, 2- NTD sem tratamento, 3- UST tratado com UST, 4- DEX (0,5 mg/kg), 5- NANO (20 mg/kg), 6- NANO+CHR (Nanogel de 20 mg/kg + Chronic de 250 mg/kg), 7- CBD (gel de CBD de 40 mg/kg), seguido do ensaio bioquímico e histopatológico. **Resultados:** Os grupos tratados com fonoforese da NECS apresentaram melhora significativa dos parâmetros avaliados após os 6 dias de tratamento, especialmente quando associada ao Chronic®, evidenciada pela redução significativa da creatina quinase (≈ 200 U/L) e da proteína C-reativa ($p < 0,001$). A análise histológica demonstrou predomínio de fibras musculares preservadas, indicativas de regeneração tecidual, e discreto infiltrado leucocitário nos grupos tratados. **Conclusão:** Portanto, o modelo terapêutico e administração da nanoemulsão do extrato de *Cannabis sativa* L. e associação ao Chronic® têm resultados promissores para o uso futuro, uma vez que os achados bioquímicos e histopatológicos indicam que a associação terapêutica potencializa a regeneração do tecido muscular, uma estratégia promissora para o tratamento de lesões musculares.

Palavras-chave: Nanoemulsão. Lesão muscular. *Cannabis sativa* L.

ABSTRACT

Introduction: Muscle injuries caused by impact trigger an inflammatory process that may impair tissue repair, making it necessary to investigate therapeutic strategies that promote muscle regeneration. In this context, the use of bioactive compounds with anti-inflammatory properties, associated with physiotherapeutic resources capable of enhancing tissue permeation, has shown promising results. **Objectives:** To evaluate the anti-inflammatory potential and muscle repair through phonophoresis of a nanoemulsion of *Cannabis sativa* L. extract (NECS), incorporated into a gel formulation, associated with oral treatment using *Bixa orellana* L. oil (Chronic®), in an experimental model using Wistar rats. **Materials and Methods:** Chemical analysis was performed by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) of the *Cannabis sativa* L. extract and *Bixa orellana* L. oil (Chronic®). The NECS was obtained and characterized, presenting a particle size of 104.0 ± 1.3 nm, a polydispersity index of 0.34 ± 0.03 , and a zeta potential of 4.48 ± 0.29 mV (30th day), followed by incorporation into a Carbopol® gel. For the experimental induction of traumatic muscle injury in the right gastrocnemius muscle, 30 Wistar rats were divided into seven experimental groups: (1) NOR, without injury induction or treatment; and the remaining groups with injury induction: (2) NTD, no treatment; (3) UST, treated with therapeutic ultrasound; (4) DEX (0.5 mg/kg); (5) NANO (20 mg/kg); (6) NANO+CHR (nanogel at 20 mg/kg plus Chronic® at 250 mg/kg); and (7) CBD (CBD gel at 40 mg/kg). Biochemical and histopathological analyses were subsequently performed. **Results:** The groups treated with NECS phonophoresis showed significant improvement in the evaluated parameters after six days of treatment, particularly when associated with Chronic®, as evidenced by a significant reduction in creatine kinase levels (≈ 200 U/L) and C-reactive protein ($p < 0.001$). Histological analysis revealed a predominance of preserved muscle fibers, indicative of tissue regeneration, along with a mild leukocyte infiltrate in the treated groups. **Conclusion:** Therefore, the therapeutic model involving the administration of *Cannabis sativa* L. nanoemulsion associated with Chronic® demonstrated promising results for future applications, since biochemical and histopathological findings indicate that this therapeutic association enhances muscle tissue regeneration, representing a promising strategy for the treatment of muscle injuries.

Keywords: Nanoemulsion; Muscle injury; *Cannabis sativa* L.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Molécula do Trans- Δ -9-tetrahydrocannabinol (D9-THC). Um canabinoide de fórmula C ₂₁ H ₃₀ O ₂	17
Figura 2 - Molécula de Canabidiol (CBD). Fórmula C ₂₁ H ₃₀ O ₂ . É um dos canabinoides de maior teor na <i>C. sativa</i> , pode chegar até 40 %. Não apresenta efeito psicoativo. O CBD mostra efeitos anti-inflamatórios, anticonvulsivantes, anti-espasmódicos, ansiolíticos.....	18
Figura 3 - Receptores que possuem ação na regeneração tecidual.....	18
Figura 4 - Ação do nutracêutico Chronic® no sistema muscular.....	19
Figura 5 - Molécula de Delta-tocotrienol.....	20
Figura 6 - Molécula de Geranilgeraniol.....	21
Figura 7 - Extrato de <i>Cannabis sativa</i> L.....	28
Figura 8 - Chronic®.....	28
Figura 9. a) Músculo gastrocnêmio dos ratos Wistar. Fonte: Autor.....	32
Figura 9. b) Equipamento para a indução da lesão muscular traumática em ratos Wistar.....	33
Figura 10 - Perfil cromatográfico do extrato de <i>Cannabis sativa</i> L. mostrando o tempo de retenção do canabidiol aos 30,54 minutos.....	35
Figura 11 - Curva de calibração de tocotrienóis totais com base no delta-tocotrienol.....	34
Figura 12 - Curva de calibração obtida para o geranilgeraniol e delta- tocotrienol.....	36
Figura 13 -Análise do tamanho médio (nm) (A), Índice de polidispersão (B) e potencial Zeta (C) da NECS, analisadas no período de 1, 3 e 30 dias após a obtenção. Apresentando média e desvio-padrão (n=3).....	38
Figura 14 - Imagem representativa do aspecto macroscópico do músculo Gastrocnêmio em grupos NTD, DEX, NANO+CHR, respectivamente. Observe que a diminuição da lesão é significativa em relação ao NTD que ainda permanece com edema após 6 dias de tratamento.....	41

Figura 15 - Efeito do tratamento com ultrassom terapêutico (UST) e fonoforese com dexametasona (DEX: 0,5 mg/kg), nanogel de *Cannabis sativa* L., nanogel de *Cannabis sativa* L. e Chronic, extrato de CBD, na inflamação induzida por lesão traumática no músculo gastrocnêmio direito de ratos. A Evolução do edema no músculo (mm) em função do tempo (dias). Fig B. A área Os resultados são apresentados como média ± DP (n = 4 animais/grupo). As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA) unidirecional, seguida pelo teste de Tukey. ***($p < 0,001$), resultado estatisticamente significativo versus grupo não tratado (UTD). NOR, grupo normal.....42

Figura 16 - Efeito do tratamento com UST e fonoforese de DEX (0,5 mg/kg) e NAE (20 mg/kg) sobre os níveis de (A) creatino quinase (CK) e (B) mioglobina sérica dos ratos com infiltrado inflamatório muscular a partir de lesão muscular no músculo gastrocnêmio. Resultados são apresentados como a média ± D.P (n=5 animais). As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância one-way (ANOVA), seguida do teste de Tukey. ***($p < 0.001$), Resultado estatisticamente significativo versus grupo NTD.....43

Figura 17. Análise histopatológica do efeito do tratamento com UST, DEX, NANO, NANO+CHR e CBD sobre lesão muscular induzida por impacto mecânico no músculo gastrocnêmio direito de ratos Wistar. Setas pretas: Infiltrado inflamatório; Cabeças de setas: Destrução de fibras musculares.....47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Efeito do tratamento com UST e fonoforese de DEX (0,5 mg/kg) e NECS (20mg/kg) sobre os parâmetros bioquímicos dos animais com lesão muscular induzido por impacto mecânico no músculo gastrocnêmio. Resultados são apresentados como a média \pm D.P (n=5 animais). As diferenças entre os grupos foram analisadas por meio da análise de variância one-way (ANOVA), seguida do teste de Tukey. *(p<0.05), Resultado estatisticamente significativo versus grupo Controle (G1).....44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
3.1 PLANTAS MEDICINAIS.....	15
3.2 A ESPÉCIE <i>Cannabis sativa</i> L.....	16
3.2.1 História, Aspectos botânicos e químicos da <i>Cannabis sativa</i> L.....	16
3.3 A ESPÉCIE <i>Bixa orellana</i> L. (CHRONIC®).....	19
3.4 ALIMENTOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS.....	21
3.5 O USO DO ULTRASSOM TERAPÊUTICO.....	21
3.6 FONOFORESE.....	23
3.7 NANOEMULSÃO.....	23
3.8 INFLAMAÇÃO.....	24
3.8.1 Inflamação e lesão muscular.....	25
3.8.2 Marcadores bioquímicos de lesão no tecido muscular esquelético.....	26
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.1 AQUISIÇÃO DO EXTRATO CONTENDO <i>Cannabis sativa</i> L.....	28
4.2 AQUISIÇÃO DO ÓLEO DE <i>Bixa orellana</i> L. (CHRONIC®).....	28
4.3 LOCAL DA PESQUISA.....	28
4.4 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO CONTENDO <i>Cannabis sativa</i> L. POR CG-MS.....	29

4.5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE <i>Bixa orellana</i> L. (CHRONIC®) POR CG-MS.....	29
4.6 OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DA NANOEMULSÃO.....	30
4.7 INCORPORAÇÃO DA NANOEMULSÃO EM GEL DE CARBÔMERO.....	30
4.8 EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL.....	30
4.8.1 Considerações éticas dos animais utilizados.....	30
4.8.2 Animais.....	31
4.8.3 Delineamento experimental.....	31
4.8.4 Lesão muscular traumática no músculo gastrocnêmio dos ratos Wistar.....	31
4.8.5 Tratamento.....	33
4.8.6 Avaliação bioquímica dos marcadores de lesão muscular do sangue coletado dos animais.....	33
4.8.7 Eutanásia e avaliação histopatológica da lesão traumática.....	34
4.8.8 Análise estatística dos resultados.....	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO DE <i>Cannabis sativa</i> L..	35
5.2 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE <i>Bixa orellana</i> L. (CHRONIC®).....	32
5.3 NANOEMULSÃO E NANOGEL DO EXTRATO DE <i>Cannabis sativa</i> L.....	37
5.4 AVALIAÇÃO DO EDEMA MUSCULAR.....	39
5.8 ANÁLISE BIOQUÍMICA DOS MARCADORES DE LESÃO MUSCULAR.....	42
5.9 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO MÚSCULO GASTROCNÊMIO.....	46
6 CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS.....	49
ANEXOS.....	58

1 INTRODUÇÃO

As lesões musculares são ocorrências comuns causadas por contusões, torções ou lacerações. Quando se trata de contusão, é causada por um trauma direto que provoca dor, inchaço e rigidez na região. Dessa maneira, as alterações biológicas que ocorrem na musculatura após uma lesão seguem, de modo geral, um padrão semelhante, independente do tipo de lesão sofrida. Estas alterações podem ser divididas em três etapas: destruição, reparo e remodelamento (Forcina et al., 2020).

Nas últimas décadas houve maior atenção com respeito a diversos tipos de tratamento para lesões musculares como o uso de recursos fisioterapêuticos, como manipulações, programas de fortalecimento e recursos da Eletrotermoterapia, dentre estes, o Ultrassom Terapêutico (UST), como recurso não-invasivo, utilizado em tratamentos de lesão muscular, para manter trofismo e função muscular. O UST pode ser indicado nas fases aguda e crônica do processo inflamatório. Os efeitos são dependentes de muitos fatores, tais como tempo de exposição, intensidade, a estrutura espacial e temporal do campo ultrassônico e o estado fisiológico do local a ser tratado (Bruning et al, 2016).

A fonoforese é o transporte de fármacos por meio da pele utilizando ondas sonoras produzidas por ultrassom: combinando a terapia de ultrassom com a terapia tópica para a obtenção de doses terapêuticas. O uso da fonoforese permite aumento da permeabilidade da membrana celular, diminuindo a resistência cutânea e o aumento do fluxo sanguíneo, o que possibilita maior penetração dos agentes farmacológicos facilitando a sua absorção (Hortêncio, 2024).

A nanoemulsão consiste na criação de emulsões com partículas em escala nanométrica, entre 20nm-250nm, com maior estabilidade e minimiza a tendência à separação de fases. Dessa forma, os benefícios são a melhoria da absorção de princípios ativos, biodisponibilidade e aumento da eficácia (Thanuku et al, 2024; Souto et al, 2022)

Assim, entre as diversas plantas medicinais em uso para compostos de medicamentos, a *Cannabis sativa* L. de um gênero monotípico pertencente à família Cannabaceae, popularmente conhecida como “Maconha”, “Cânhamo” e “Hemp” possui mais de 100 fitocannabinóides diferentes, no qual, destaca-se o Canabidiol (CBD) com teor que pode chegar até 40% e não

apresenta efeito psicoativo. Estudos prévios vêm comprovando o significativo efeito anti-inflamatório, anticonvulsivante, anti-espasmódico, ansiolítico e analgésico (Albuquerque et al, 2025).

O Chronic® é um nutracêutico desenvolvido a partir do extrato oleoso da *Bixa orellana* L., planta nativa do Brasil popularmente conhecida como “Urucum” ou “Anato”. Possui alta biodisponibilidade garantida pela tecnologia Evolve ® , que consiste em um sistema revestido que disponibiliza os compostos oleosos em sua forma sólida, garantindo a proteção dos ácidos graxos insaturados, a preservação dos fitoativos e o aumento da absorção. Em sua formulação contém o Geranilgeraniol e o Delta-tocotrienol que contribuem como agentes anti-inflamatórios, antioxidante e regenerativo (Batista et al, 2022; Santos et al, 2024).

Portanto, há a necessidade do estudo da associação do nutracêutico Chronic® à fonoforese do nanogel contendo extrato de *Cannabis sativa* L., considerando o potencial sinérgico dessa combinação terapêutica. O Chronic® apresenta propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes que podem atuar sistemicamente na modulação da resposta inflamatória, enquanto a fonoforese favorece a permeação dérmica do nanogel, possibilitando maior biodisponibilidade local dos compostos bioativos da *Cannabis sativa* L. Dessa forma, a combinação dessas abordagens tem como objetivo avaliar o processo de reparo da lesão muscular por impacto, no músculo gastrocnêmio de ratos Wistar.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do nutracêutico Chronic® associado à fonoforese do nanogel contendo extrato de *Cannabis sativa* L. no reparo de lesão muscular esquelética em ratos Wistar.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Avaliar a composição química do extrato de *Cannabis sativa* L.;
- Avaliar a composição química do óleo de *Bixa orellana* L. (Chronic®);
- Realizar preparo, caracterização e estabilidade da nanoemulsão do extrato de *Cannabis sativa* L.;
- Preparar um nanogel para a aplicação associado à fonoforese a partir do extrato de *Cannabis sativa* L.;
- Avaliar a resposta do nutracêutico Chronic® associado à fonoforese do nanogel contendo extrato de *Cannabis sativa* L. sobre a lesão muscular esquelética induzida por impacto mecânico em ratos Wistar;
- Quantificar a presença de marcadores bioquímicos de lesão muscular no plasma sanguíneo;
- Realizar análise histopatológica do músculo gastrocnêmio direito.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PLANTAS MEDICINAIS

As plantas medicinais são amplamente utilizadas na preparação de remédios, seja por meio de práticas tradicionais ou com embasamento científico. O uso de medicamentos derivados de plantas na medicina moderna teve origem nas práticas de cura indígena e no conhecimento popular, presentes em sistemas tradicionais de medicina. Já no final do século V a.C., Hipócrates mencionava entre 300 e 400 plantas com propriedades medicinais. Posteriormente, no primeiro século d.C., Dioscórides elaborou a obra *De Matéria Médica*, considerada um marco inicial das farmacopeias modernas por catalogar diversas espécies vegetais com fins terapêuticos (Hotwani, 2014).

No entanto, com o avanço da ciência no século XIX, o empirismo da alquimia foi substituído pela química experimental. Essa transformação possibilitou a síntese laboratorial de substâncias orgânicas, sendo um dos fatores determinantes para a Revolução Industrial e o avanço tecnológico. Com o desenvolvimento de derivados mais puros e concentrados de compostos vegetais, a medicina passou a priorizar o uso de drogas sintéticas, marginalizando a fitoterapia, apesar de seu valor terapêutico (Latif et al, 2025; Silva, 2005).

A consolidação da medicina científica contribuiu significativamente para o aumento da expectativa de vida humana, principalmente pela aplicação de princípios científicos nas práticas de saúde, o que possibilitou o desenvolvimento de terapêuticas que elevaram a qualidade de vida. Nesse contexto, o paradigma cartesiano passou a dominar a compreensão do processo saúde-doença (França, 2008). Ainda assim, é importante destacar que, atualmente, cerca de 25% de todas as prescrições médicas incluem substâncias de origem vegetal ou análogos sintéticos inspirados em compostos naturais. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 80% da população mundial, especialmente nos países em desenvolvimento, ainda depende de medicamentos derivados de plantas para seus cuidados de saúde.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) regulamentou os fitoterápicos como medicamentos convencionais, exigindo comprovação de qualidade, segurança e eficácia. Essa regulamentação baseia-se em levantamentos etnofarmacológicos, além de documentação técnico-científica, estudos farmacológicos e toxicológicos, tanto pré-clínicos quanto clínicos (Brasil, 2010).

Para a seleção de espécies vegetais com potencial terapêutico, podem ser considerados três critérios principais: (i) a escolha aleatória de espécies disponíveis na região; (ii) a seleção baseada em determinada classe química dentro de um gênero ou família vegetal; e (iii) a escolha fundamentada em informações fornecidas pela população, com base em seu uso tradicional e evidências terapêuticas. É essencial ressaltar que uma planta só pode ser considerada medicinal se utilizada de forma correta, pois o uso inadequado pode levar à intoxicação e provocar diversos efeitos colaterais (Carneiro et al., 2015).

3.2 A ESPÉCIE *Cannabis sativa* L.

3.2.1 História, Aspectos botânicos e químicos da *Cannabis sativa* L.

A *Cannabis sativa* L., popularmente conhecida como maconha, cânhamo ou hemp, é uma das plantas mais antigas utilizadas pelo ser humano, com registros de cultivo há mais de 12 mil anos na Ásia Central. Posteriormente, seu uso se expandiu para a China, onde foi mencionada na Farmacopeia por volta de 2.700 a.C., e, em seguida, para outras regiões da Ásia, Egito e Europa Ocidental (Borille et al., 2017).

Pertencente à família Cannabaceae, a planta é considerada monotípica, embora o gênero inclua três espécies descritas: *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* e *Cannabis ruderalis*. No entanto, devido à hibridização e à fluidez de seus limites taxonômicos, muitos autores defendem o reconhecimento de apenas uma espécie, a *C. sativa* (Schilling et al., 2020). Uma característica marcante do gênero é a presença de metabólitos secundários denominados fitocanabinoides, compostos produzidos principalmente nos tricomas das inflorescências femininas. Mais de 100 fitocanabinoides já foram identificados, entre eles o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) e o cannabidiol (CBD) (Schilling et al., 2020).

Do ponto de vista botânico, a planta apresenta rápido crescimento a partir da germinação de pequenas sementes, sendo considerada uma herbácea anual. A produção de resina ativa ocorre principalmente nas plantas fêmeas, embora ambos os sexos possuam canabinóides em diferentes proporções. Estima-se que a *C. sativa* contenha cerca de 400 substâncias químicas distintas (Souza da Silva et al., 2018).

A biossíntese dos canabinóides inicia-se com a formação do ácido canabigerólico (CBGA), precursor dos principais derivados, como o ácido canabidiólico (CBDA), o ácido canabicromênico (CBCA) e o ácido Δ^9 -tetrahydrocannabinólico (Δ^9 -THCA). A partir de processos

de isomerização, oxidação e aquecimento, esses compostos originam canabinóides neutros, entre os quais se destacam o CBD, o Δ^9 -THC, o Δ^8 -THC, o canabinol (CBN) e o canabicromeno (CBC) (André et al., 2016; Pellati et al., 2018).

O sistema endocanabinóide humano é composto por receptores específicos distribuídos em diferentes tecidos. Os receptores CB1 estão presentes principalmente no sistema nervoso central, incluindo hipocampo, gânglios da base, amígdala, córtex, cerebelo e tronco encefálico, além de estruturas periféricas, como fígado, trato gastrointestinal, tecido adiposo e células imunes. Já os receptores CB2 concentram-se sobretudo em células do sistema imunológico e em regiões do sistema nervoso periférico (Jourdan et al., 2010; Piomelli; Sasso, 2014; Oriola, 2024).

O THC é o canabinoide mais conhecido, responsável pelos efeitos psicotrópicos da planta. A diferença entre maconha e cânhamo está relacionada ao teor de THC: plantas com concentrações superiores a 0,3% de THC na flor seca são classificadas como maconha, enquanto aquelas com níveis inferiores a esse limite (variante que pode oscilar entre 0,2% e 1% conforme a legislação) são consideradas cânhamo (Schilling et al., 2020).

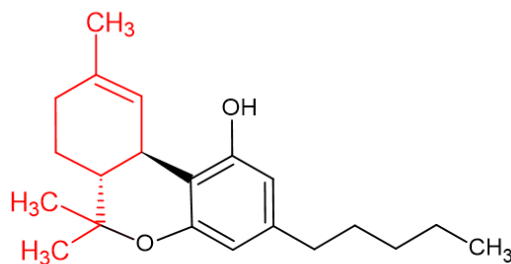


Figura 1 - Molécula do Trans- Δ -9-tetrahydrocannabinol (D9-THC). Um canabinoide de fórmula $C_{21}H_{30}O_2$. Fonte: (Carvalho, 2021).

Entre os canabinoides de maior relevância terapêutica destaca-se o CBD, que corresponde ao segundo composto mais abundante da planta, especialmente no cânhamo destinado à produção de fibras. Diferentemente do THC, o CBD não apresenta efeitos psicoativos e possui baixa afinidade pelos receptores CB1 e CB2. Estudos demonstram que atua como agonista inverso do CB2, conferindo propriedades anti-inflamatórias, além de potencializar o perfil de segurança do THC ao reduzir seus efeitos colaterais (Hale et al., 2018; Pisanti, 2017). O CBD ainda apresenta propriedades anti-inflamatórias, anticonvulsivantes, ansiolíticas, anti-espasmódicas e analgésicas (Carvalho, 2021; Marinho, 2023).

A atividade analgésica dos canabinóides têm recebido especial atenção científica. A modificação estrutural de suas moléculas levou ao desenvolvimento de compostos com potência analgésica significativamente superior à da morfina, chegando a ser até 6.000 vezes mais eficazes em alguns ensaios (Honório, 2006). Além disso, pesquisas indicam que os canabinóides modulam a síntese de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, sugerindo potencial aplicação no tratamento de doenças relacionadas a processos inflamatórios (Oriola, 2024).

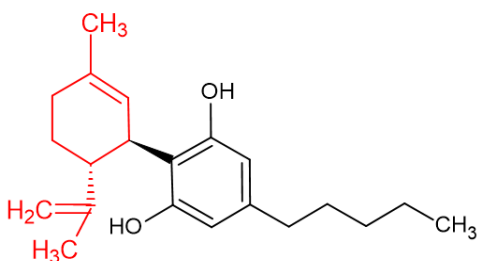


Figura 2 - Molécula de Canabidiol (CBD). Fórmula C₂₁H₃₀O₂. É um dos canabinoides de maior teor na *C. sativa*, pode chegar até 40 %. Não apresenta efeito psicoativo. O CBD mostra efeitos anti-inflamatórios, anticonvulsivantes, anti-espasmódicos, ansiolíticos. Fonte: (Carvalho, 2021).

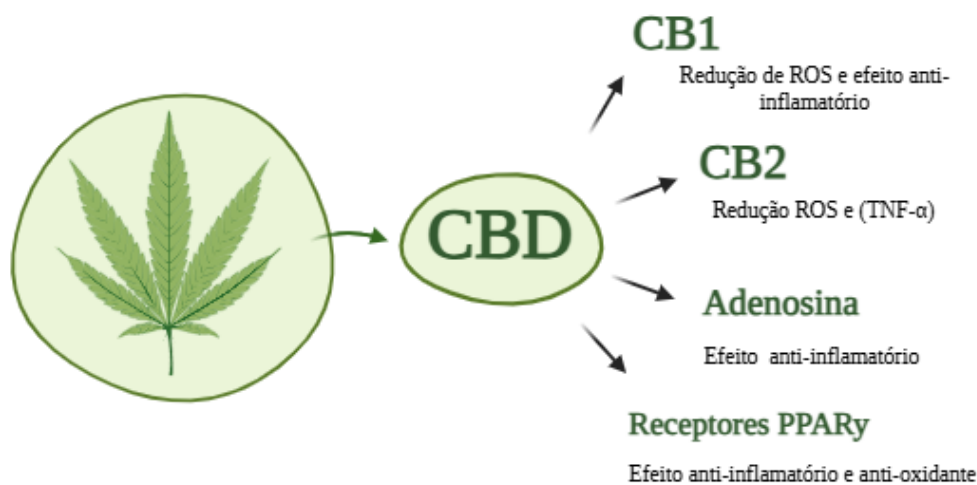


Figura 3 - Receptores que possuem ação na regeneração tecidual. Fonte: Autor

3.3 A ESPÉCIE *Bixa orellana* L. (CHRONIC®)

O Chronic é um nutracêutico desenvolvido a partir do extrato oleoso da *Bixa orellana* L., planta nativa do Brasil popularmente conhecida como “Urucum” ou “Anato”. Possui alta biodisponibilidade garantida pela tecnologia Evolve®, que consiste em um sistema revestido que disponibiliza os compostos oleosos em sua forma sólida, garantindo a proteção dos ácidos graxos insaturados, a preservação dos fitoativos e o aumento da absorção. O óleo das sementes de *Bixa orellana* L. possui diversos compostos fenólicos, de importância para a saúde humana, relacionados a funções biológicas, como redução do risco de doenças inflamatórias, degenerativas e cardiovasculares. O óleo de semente também é uma importante fonte natural de γ -tocotrienóis e geranilgeraniol, compostos antioxidantes, anticancerígenos e frequentemente associados (Pereira, 2021; Batista, 2022)

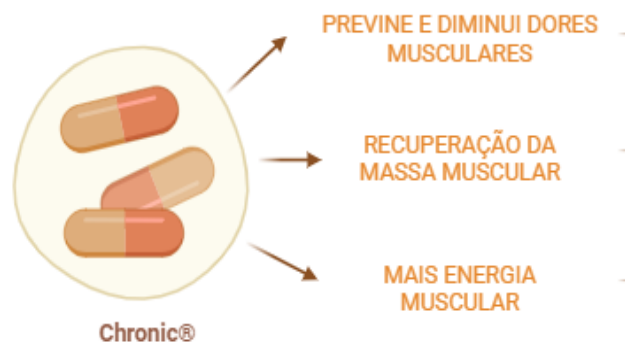


Figura 4 - Ação do nutracêutico Chronic® no sistema muscular. **Fonte:** Autor.

Sendo assim, tanto os tocotrienóis quanto o geranilgeraniol são objetos de pesquisa devido às suas atividades biológicas, incluindo efeito anti-inflamatório (Medvedev et al., 2018; McCully et al., 2020).

Para entender melhor, o tocotrienol pode ser dividido em 4 isômeros (alfa, beta, gama e delta) com base na posição da cadeia lateral metil no anel cromanol. Beta e gama-tocotrienóis são isômeros estruturais e possuem o mesmo número de grupos metil no anel cromanol. Alfa-tocotrienol tem um grupo metil adicional, enquanto deltatocotrienol tem um grupo metil a

menos no anel cromanol em comparação com beta e gama-tocotrieno consistindo de um anel cromanol e uma longa cauda de carbono a cauda de carbono do tocotrienol contém três ligações duplas (uma cauda de farnesil insaturada). Essa variação estrutural é responsável, em parte, por diferenças na atividade antioxidante e funcional entre os diferentes tipos de tocotrienóis, bem como pela sua capacidade de interação com membranas celulares e participação em processos fisiológicos diversos. Estudos recentes destacam que essas características estruturais contribuem para o potencial terapêutico diferenciado dos tocotrienóis dentro da família da vitamina E (Anand et al, 2010; Patel et al., 2024).

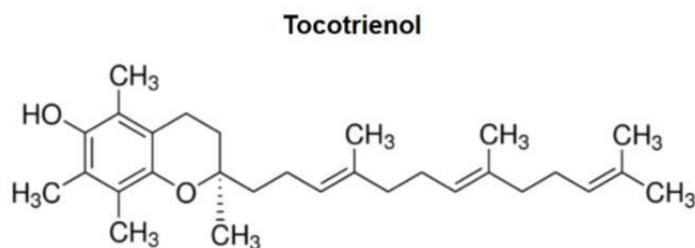


Figura 5 - Molécula de Delta-tocotrienol. Fonte: (Batista et al, 2022)

O geranylgeraniol (GGOH), um composto isoprenóide, é o principal constituinte oleoso das sementes de urucum (constituindo 1% das sementes secas) e extratos de corante alimentar de urucum (Chin et al., 2022). Biologicamente, o GGOH é considerado um composto essencial para o crescimento/proliferação celular, diferenciação e fusão vesicular e desempenha um papel na regulação da apoptose e sobrevivência celular em plantas e animais (Ho et al., 2018). Dessa forma, cada vez mais há estudos com foco nessas moléculas para avaliação de atividade anti-inflamatória, especificamente, na remodelação óssea, reparação muscular e preservação articular agravadas no processo do envelhecimento (Ho et al., 2018).



Figura 6 - Molécula de Geranylgeraniol. Fonte: (Batista et al, 2022)

3.4 ALIMENTOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS

Os alimentos funcionais, assim como qualquer alimento, contém nutrientes ou “não nutrientes” em sua composição que possuem a capacidade de atuar no metabolismo humano, promovendo benefícios à saúde e a prevenção de doenças crônicas. Além das funções básicas, quando consumidos como parte da dieta usual, produzem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos à saúde. No Brasil, estes são regulamentados pela ANVISA e devem ser seguros para serem consumidos sem a supervisão e/ou a recomendação médica (Safraid, 2022).

Em contraposição, os alimentos nutracêuticos promovem benefícios à saúde com potencial terapêutico e preventivo em diversas doenças. Esses produtos podem ser formulados a partir de suplementos dietéticos, nutrientes isolados, compostos bioativos de origem vegetal e alimentos funcionais, sendo disponibilizados na forma de bebidas, sopas, cereais ou cápsulas (Da Cruz et al., 2022).

Considerando que aos alimentos funcionais são atribuídos a função de prevenir doenças e reduzir fatores de risco, os nutracêuticos passam a desempenhar um papel tanto preventivo quanto terapêutico. Dessa forma, os nutracêuticos abrangem suplementos dietéticos e outras formas de produtos alimentares, enquanto os alimentos funcionais são apresentados na forma de alimentos convencionais inseridos na dieta habitual (Da Silva Camilo et al., 2024).

3.5 O USO DO ULTRASSOM TERAPÊUTICO

A partir da década de 1970 houve maior atenção com respeito ao uso de recursos fisioterapêuticos, como manipulações, programas de fortalecimento e recursos da Eletrotermoterapia, dentre as modalidades, o Ultrassom Terapêutico (UST) que é utilizado, há

mais de 60 anos, em tratamentos de lesão muscular e para manter trofismo e função muscular (Bruning et al, 2016).

O ultrassom terapêutico (US) é uma modalidade de energia sonora caracterizada por ondas mecânicas de alta frequência (>20 kHz) que se propagam longitudinalmente através de meios elásticos. Ao ser transmitido aos tecidos biológicos, o US gera vibrações moleculares que resultam em alterações celulares mediadas por efeitos térmicos e mecânicos, incluindo micromassagem, cavitação e estimulação da resposta celular, promovendo mudanças fisiológicas relevantes para a reparação tecidual e modulação da dor. A propagação dessas ondas exige um meio com propriedades elásticas, no qual a energia é transmitida por compressões e rarefações sucessivas das moléculas do tecido, possibilitando a conversão da energia sonora em efeitos biológicos (tais como aumento da circulação sanguínea, alteração da permeabilidade da membrana celular e ativação de processos de cicatrização) (Martines et al., 2000; Martins et al., 2022).

Com isso, a energia sonora terapêutica é gerada por um transdutor que transforma a energia inicial elétrica em energia mecânica. Antes que o UST possa ser aplicado, o aparelho deve ser ajustado e a saída de energia estabelecida. O contato entre o transdutor e a pele deve ser adequado para que não haja perda de ondas (Muller et al., 2022).

Em relação aos parâmetros, a frequência do transdutor pode ser de 3MHz, sendo esta mais superficial, com profundidade de 1 a 2 cm, ou de 1MHz que atinge tecidos mais profundos de 3 a 5cm. A intensidade pode variar entre 0,1 e 0,3 W/cm, e, recentemente, alguns equipamentos foram projetados para apresentar limites de intensidade mais compatíveis com a prática clínica, que variam de 0,1 a 2,0 W/cm uma vez que raramente utilizam-se doses superiores a 2,0 W/cm. O UST pode ser indicado nas fases aguda e crônica do processo inflamatório. Os efeitos são dependentes de muitos fatores, tais como tempo de exposição, intensidade, a estrutura espacial e temporal do campo ultrassônico e o estado fisiológico do local a ser tratado (Farcic, 2012). Sendo comprovado na literatura que o UST promove reparo de fraturas, cicatrização de feridas, melhora a extensibilidade muscular e a força muscular (Da Silva et al., 2022).

Usualmente é aplicado, na forma pulsada, 24 horas após a lesão muscular, podendo levar ao aumento da síntese de proteínas contráteis, derivadas das células satélites das miofibrilas,

estimular o realinhamento das fibras de colágeno, favorecer a formação de novas fibras musculares e reduzir a área da lesão (Bruning, R, M, C et al., 2016).

3.6 FONOFORESE

A fonoforese é uma técnica fisioterapêutica não invasiva que utiliza o ultrassom terapêutico para ampliar a permeabilidade da pele e facilitar a administração transdérmica de fármacos. Considerando seus efeitos térmicos, atérmicos e de administração farmacológica, existem diversos distúrbios e patologias que podem ser tratados com o US (Zhang et al., 2022).

Nesse contexto, a fonoforese insere-se no conjunto dos novos sistemas de liberação de fármacos, cujos mecanismos podem ser classificados em físicos e bioquímicos. Os mecanismos físicos são também designados sistemas de liberação controlada de fármacos, incluindo osmose, difusão, erosão, dissolução e eletrotransporte. Os sistemas bioquímicos incluem anticorpos monoclonais, terapia gênica, sistemas de vetorização, polímeros sequestradores de fármacos, microemulsões e lipossomas (Cavalcante et al., 2019).

A facilitação de permeação do fármaco na barreira cutânea por meio da fonoforese é resultante do aumento da permeabilidade da membrana celular pela vibração mecânica das ondas do ultrassom, conhecida como cavitação, desorganizando o extrato córneo pela desnaturação da queratina e remoção de células mortas da pele diminuindo a resistência cutânea e possibilita à penetração do produto fitoterápico, independente da polaridade deste, visto que o efeito é mecânico e não iônico (Borges, 2006; Zhou, 2015).

3.7 NANOEMULSÃO

As nanoformulações são sistemas inovadores de entrega de fármacos com tamanho que varia entre 10 e 1000 nm, nos quais o fármaco pode ser dissolvido, encapsulado ou ligado a um transportador, com o objetivo de melhorar a distribuição sistêmica, atingir o local de ação desejado e liberar a carga ativa de forma controlada, possibilitando o uso de doses menores para alcançar efeitos terapêuticos mais eficazes e com menor toxicidade sistêmica. Essa abordagem representa um avanço em relação às formulações convencionais, pois a manipulação em escala nanométrica permite superar barreiras fisiológicas e otimizar a farmacocinética dos medicamentos (Jaison et al., 2016; Zhang et al., 2023).

Dentre os sistemas nanoestruturados, as micelas poliméricas se destacam com tamanho tipicamente entre 10 e 100nm, compostas por um núcleo hidrofóbico e uma casca hidrofílica que se auto-organizam em solução aquosa. Essa estrutura permite que fármacos hidrofóbicos sejam eficientemente encapsulados no núcleo, enquanto a casca hidrofílica confere estabilidade ao sistema e prolonga sua circulação no organismo, favorecendo a passagem por barreiras biológicas e reduzindo a eliminação precoce. Por essas características, as micelas representam um exemplo específico de nanoformulação que não só protege o fármaco contra degradação prematura, como também favorece sua entrega direcionada aos tecidos alvo (Wu et al, 2012).

Consequentemente, destacam-se as nanoemulsões, uma classe de nanoformulações compostas por emulsões de tamanho de 20 a 250nm, caracterizadas por alta estabilidade físico-química e baixa tendência à sedimentação. As propriedades que compõem as emulsões são essenciais e apresentam um papel fundamental no desempenho de medicamentos na indústria farmacêutica, uma vez que fatores como transparência óptica, estabilidade, tamanho de partícula e biodisponibilidade influenciam diretamente a eficiência da formulação, favorecendo o aumento do potencial terapêutico (Chatzidaki et al., 2025).

Segundo Ferreira (2017), as nanoemulsões apresentam uma grande vantagem no aumento da disponibilidade de substâncias lipofílicas ativas e a encapsulação aumenta a proteção dos bioativos que estão encapsulados, evitando a oxidação e a volatilização destes compostos. As nanoemulsões também estão sendo estudadas para aprimorar aspectos como a solubilidade e estabilidade de medicamentos, pois agem como transportadoras de agentes ativos (Rizg et al, 2021).

3.8 INFLAMAÇÃO

A inflamação é um componente complexo e necessário da resposta a estímulos biológicos químicos ou físicos e os eventos celulares e moleculares que iniciam e regulam as interações entre os vários participantes do processo inflamatório continuam sendo uma fonte de investigações contínua. No nível do tecido, a inflamação é caracterizada por vermelhidão, inchaço, calor, dor e perda da função do tecido, que resultam de respostas locais de células imunes, vasculares e inflamatórias à infecção ou lesão (Takeuche, 2010). Além disso, envolve importantes alterações microcirculatórias, incluindo aumento da permeabilidade vascular, recrutamento e extravasamento de leucócitos, também a liberação de mediadores inflamatórios,

os quais regulam a magnitude e a duração da resposta inflamatória (Medzhitov, 2021; Chen et al., 2022).

As vias gerais da resposta inflamatória consistem em indutores, sensores e mediadores. Os indutores podem ser organismos infecciosos ou estímulos não infecciosos, como toxinas, corpos, sinais de células necróticas e tecidos danificados. Sensores são moléculas especializadas que são ativadas pelos indutores, que desencadeiam a produção de mediadores. Os mediadores são substâncias químicas endógenas que podem induzir a inflamação e reparo tecidual, e pode ativar os efetores, tecidos e células. A conjugação destes múltiplos jogadores dá origem a vias alternativas no processo inflamatório e qual caminho é tomado depende da incitação (Varela et al, 2018).

Estímulos inflamatórios ativam vias de sinalização intracelular que então ativam a produção de mediadores inflamatórios. Estímulos inflamatórios primários, incluindo produtos microbianos e citocinas como interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α), mediam a inflamação por meio da interação com os TLRs, receptor de IL-1 (IL-1R), receptor de IL-6 (IL-6R) e receptor de TNF (TNFR). A ativação do receptor desencadeia importantes vias de sinalização intracelular, incluindo a proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), fator nuclear kappa-B (NF- κ B) e vias de transdutor de sinal e ativador de transcrição (STAT) da Janus quinase (JAK) (Chen et al., 2017).

3.8.1 Inflamação e lesão muscular

O tecido muscular esquelético é o mais frequentemente acometido em traumas musculoesqueléticos, sendo eles em contusões, torções ou lacerações. Adicionalmente, a maior incidência de lesões musculares em humanos é decorrente, principalmente, de contusões produzidas por mecanismo de impacto. A contusão muscular geralmente é causada por um trauma direto que provoca dor, inchaço e rigidez na região. Nesse contexto, destaca-se o músculo gastrocnêmio, que, por ser intensamente solicitado em atividades físicas de alto impacto e apresentar elevado risco de lesões e rupturas, tem sido amplamente investigado. Em humanos, os músculos gastrocnêmio e sóleo contribuem entre 22% e 35,8% do impulso total necessário para a execução do salto vertical, o que justifica sua maior suscetibilidade a lesões decorrentes de sobrecarga mecânica (Sant'anna et al., 2022).

Por consequência, a lesão muscular é caracterizada por uma série de fatores, incluindo desorganização das miofibrilas, ruptura de mitocôndria e retículo sarcoplasmático, interrupção da continuidade do sarcolema, autodigestão e necrose celular, além de disfunção microvascular progressiva e inflamação local (Vasconcelos, 2011).

O dano muscular provoca uma resposta inflamatória aguda e está associado a um aumento nas concentrações de creatina quinase (CK) no sangue, além de causar dor muscular de início tardio, diminuição na amplitude de movimento e redução no desempenho muscular e recrutamento de citocinas pró-inflamatórias (Tsuchia, 2021).

Nesse sentido, as alterações biológicas que ocorrem na musculatura após uma lesão seguem sempre um mesmo padrão, independentemente do tipo de lesão. Estas alterações podem ser didaticamente divididas em três etapas: destruição, reparo e remodelamento. A fase de destruição é caracterizada pela ruptura das miofibrilas e necrose de fibras musculares, seguida de extravasamento sanguíneo, juntamente com uma intensa resposta inflamatória mediada por células como neutrófilos e macrófagos. Na fase de reparo, células satélites musculares são ativadas e proliferam, contribuindo para a regeneração das fibras lesionadas, enquanto ocorre revascularização e deposição de tecido conjuntivo provisório que estabiliza a área afetada. Por fim, a fase de remodelamento envolve a reorganização do tecido cicatricial, a maturação das fibras regeneradas e a recuperação progressiva da capacidade funcional do músculo, processo que pode se estender por semanas a meses, dependendo da gravidade da lesão e do tratamento instituído (Jesse et al., 2024; Michele, 2022;).

3.8.2 Marcadores bioquímicos de lesão no tecido muscular esquelético

Existem vários métodos utilizados para determinar a lesão de um músculo, que podem ser diretos ou indiretos, e a maior parte das lesões musculares em humanos é avaliada por meio de indicadores sanguíneos de dano muscular e medidas de performance funcional. Entre os marcadores bioquímicos mais empregados estão creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) e proteína C-reativa (PCR), os quais demonstram alterações significativas após lesões ou esforços musculares intensos, correlacionando-se com o grau de dano tecidual e resposta inflamatória (Salcedo et al., 2024).

Especificamente, a atividade da creatina quinase aumenta após sessões repetidas de exercício ou após lesões musculares, o que reforça sua aplicabilidade como marcador indireto de

dano muscular. Dessa forma, a CK tem sido amplamente empregada tanto no diagnóstico quanto na prevenção de lesões musculares, uma vez que sua elevação no plasma sanguíneo sugere agressão às fibras musculares (Abreu et al., 2015, Chen et al., 2019).

Nesse contexto, alterações nas concentrações plasmáticas de enzimas musculares, especialmente da creatina quinase, constituem um indicativo de lesão das células musculares esqueléticas. O rompimento da membrana celular aumenta sua permeabilidade, ocasionando o extravasamento dessas proteínas para o meio extracelular. Assim, concentrações séricas elevadas de CK indicam a ocorrência de dano tecidual e permitem inferir, de forma indireta, o grau de agressão muscular provocado por exercício físico intenso ou trauma mecânico (Bandeira, 2014; Bandeira et al., 2012).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AQUISIÇÃO DO EXTRATO CONTENDO *Cannabis sativa* L.

O extrato de *Cannabis sativa* L., frasco contendo 10 ml, foi adquirido pela empresa Zion Medpharma, Lote-22007, em novembro de 2023.



Figura 7 - Extrato de *Cannabis sativa* L. Fonte: Autor

4.2 AQUISIÇÃO DO ÓLEO DE *Bixa orellana* L. (CHRONIC®)

O nutracêutico Chronic® foi adquirido pela empresa Ages Bioactive Compounds Co. (São Paulo, Brasil) em janeiro de 2024. A técnica de extração segue um processo padronizado protegido por uma patente.



Figura 8 - Chronic®. Fonte: Autor

4.3 LOCAL DA PESQUISA

As atividades experimentais foram desenvolvidas no Laboratório de Pesquisa em Fármacos, Coordenador: Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho, da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), localizado na Rod. Josmar Chaves Pinto, km 02 - Jardim Marco Zero,

Macapá - AP, 68903-419 - Campus Marco Zero no município de Macapá, no período de Janeiro a Junho de 2024

4.4 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO CONTENDO *Cannabis sativa* L. POR CG-MS

O extrato de *Cannabis sativa* (Lote - 22007) foi obtido da Zion Medpharma (São Paulo, SP, Brasil), com concentração de extrato de 200 mg/mL, contendo 50 mg/mL de CBD e < 2 mg/mL de THC. As condições de análise por cromatografia gasosa (CG 2010, detector de massa MS2010 Plus, Shimadzu corporation, Kyoto, Japão) foram coluna capilar RTX-5 (30 m × 0,25 mm ID × 0,25 µm) e hélio como gás de arraste, com concentração de 14 mL/ vazão mínima. A temperatura do forno foi programada para permanecer em 60°C por 1 minuto e depois aumentar 5°C/min até 300°C. A temperatura do injetor foi ajustada para 280°C e a temperatura do detector para 250°C. Uma injeção de 1 µL foi realizada em modo split na proporção de 10:1. Os espectros de fragmentação dos compostos foram avaliados e identificados utilizando a biblioteca NIST do equipamento.

4.5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE *Bixa orellana* L. (CHRONIC®) POR CG-MS

As análises por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) foram realizadas utilizando um equipamento Shimadzu GC-2010, integrado a um auto-injetor Shimadzu AOC-5000 e a um detector de massas Shimadzu MS2010 Plus com impacto de elétrons a 70 eV. O sistema incluía uma coluna de sílica fundida DB-5MS (Agilent J&W Advanced, 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, 65 kPa).

As condições operacionais foram configuradas com uma razão de divisão de 1:20, hélio como gás de arraste, volume de injeção de 1,0 µL, temperatura do injetor e do detector ajustadas a 250 °C. A temperatura inicial da coluna foi fixada em 120 °C por 2 minutos, seguida de um aquecimento à taxa de 5 °C/min até atingir 270 °C, totalizando 36 minutos de análise. A identificação dos ésteres de ácidos graxos foi realizada por meio da comparação dos espectros de fragmentação obtidos com aqueles presentes na biblioteca de dados do GC-MS (Rosset, I. G. et al., 2013).

4.6 OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DA NANOEMULSÃO

A nanoemulsão do extrato de *Cannabis sativa* L. (NECS) foi produzida usando um método de baixa energia, conforme descrito por Borges et al. (2017). Para uma massa final de 20 g, 90% de água, 5% de extrato de *Cannabis sativa* L. e 5% de Tween 20. Inicialmente foi preparada uma fase adicionando extrato de *Cannabis sativa* L e Tween 20, e a mistura foi agitada usando um agitador magnético (750 rpm) por 30min. Então, a fase aquosa foi adicionada a uma taxa de fluxo de 5 ml/min com agitação constante por 60 minutos. A estabilidade da nanoemulsão foi avaliada no 1º, 3º e 30º dias após preparação usando análise macroscópica de cor, aparência normal, separação de fases e sedimentação. O tamanho da partícula e o índice de polidispersidade do extrato de *Cannabis sativa* L. foram avaliados usando um instrumento Zetasizer 5000 (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido). O extrato de *Cannabis sativa* L foi diluído usando Milli- água Q (1:25), e as medidas foram realizadas em triplicata, com valores expressos em média e desvio padrão.

4.7 INCORPORAÇÃO DA NANOEMULSÃO EM GEL DE CARBÔMERO

O gel de Carbômero (Carbopol®) foi preparado empregando uma fase A: Metilparabeno (0,3 %), Propilparabeno (0,2%), Propilenoglicol (4 %); fase B: Carbopol® (2 %), Água destilada (93.5 %). Foram aquecidos os componentes das fases A e B, logo em seguida as fases foram misturadas lentamente com auxílio de agitador mecânico até obtenção de aspecto e característica de gel base, a correção do pH para 6,5 foi realizado utilizando trietanolamina. Foi pesado 10 g (20%) da Nanoemulsão extrato de *Cannabis sativa* L. e acrescentado 40g (80%) de gel Carbopol® sob agitação magnética (750 rpm) por 120 min, para formar uma formulação final de 50g. A determinação da proporção gel/NECS foi verificada previamente pela característica macroscópica do gel formado, separação de fases, aspecto, cor, odor, espalhabilidade tópica, deslizamento e acoplamento do transdutor do ultrassom em temperatura ambiente (Rocha-Filho et al., 2017; Lima et al., 2020).

4.8 EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

4.8.1 Considerações éticas dos animais utilizados

A comissão de ética de Uso de Animais da Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, aprovou na data 28 de agosto de 2018 o parecer referente ao protocolo nº 015/2018 e certifica que o trabalho está de acordo com os princípios de ética e bem estar do animal.

4.8.2 Animais

Para os experimentos, foram utilizados 35 ratos da espécie *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar pesando entre 300-400 gramas. Os animais foram provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência de Animais de Laboratório - CEMIB da Universidade de Campinas- UNICAMP, e ficaram mantidos no Biotério de Experimentação do Laboratório de Pesquisa em Fármacos com ração e água fornecidas à vontade. Todos os experimentos foram realizados em sala com temperatura controlada (25+1°C), correspondente à zona de termoneutralidade para roedores. Os animais permaneceram sob ciclo claro escuro (12/12 h) e ambientados. Assim, todo o experimento foi realizado de acordo com as recomendações do CEUA.

4.8.3 Delineamento experimental

A lesão no músculo Gastrocnêmio foi induzida pela adaptação de Lima et al (2020). Onde foi realizada lesão muscular por trauma no músculo gastrocnêmio direito. Os animais foram divididos em sete grupos experimentais (n=5), sendo:

- **Grupo 1** - Animais normais (**NOR**), grupo sem lesão e tratamento;
- **Grupo 2** - Controle não-tratado (**NTD**), com indução da lesão;
- **Grupo 3** - Ultrassom terapêutico (**UST**), com indução da lesão e tratado com UST;
- **Grupo 4** - Fonoforese de Dexametasona (**DEX**), com indução da lesão e tratado com dose de 0,5 mg/kg em gel;
- **Grupo 5**- Fonoforese do nanogel de *Cannabis sativa* (**NANO**), indução da lesão e tratado com dose de 20 mg/kg;
- **Grupo 6**- Fonoforese da nanogel de *Cannabis sativa* (**NANO+CHR**) associado ao Chronic® com dose de 250 mg/kg, indução da lesão e tratado com Nanogel de 20 mg/kg e Chronic com dose de 250mg/kg.
- **Grupo 7**- Fonoforese do gel de *Cannabis sativa* (**CBD**), indução da lesão e tratado com dose de gel de CBD de 40 mg/kg.

4.8.4 Lesão muscular traumática no músculo gastrocnêmio dos ratos Wistar

O mecanismo de lesão muscular foi realizado no músculo gastrocnêmio (**Figura 9. a**), induzido por meio de um equipamento, elaborado conforme protocolo previamente testado por (Lima et al., 2020), uma adaptação baseada na técnica descrita por McBrier et al. (2009). Foi confeccionado com três bases paralelas de madeira, transpostas em seu centro por uma peça de Policloreto de Vinila (PVC), onde percorreu um cilindro metálico de 267g, uma altura de 60cm (**Figura 9.b**)

Previamente à indução da lesão, os animais foram anestesiados pelo método intraperitoneal com Tiopental sódico (0,5g) conforme Lima et al (2020), em seguida foi realizada a tricotomia da pata posterior direita, face póstero-lateral e medial; posteriormente, foram posicionados na base do equipamento de produção da lesão, em decúbito ventral, com rotação externa e abdução da pata, centralizada na peça de Policloreto de Vinil (PVC).

A contusão muscular foi provocada pelo impacto direto do cilindro metálico de 267g, lançado de uma altura de 60cm, com energia cinética de $1,57 \times 10^{-3}$ Joules. Após o trauma, a pata conduzida foi inspecionada manualmente para descartar a presença de fraturas ósseas.

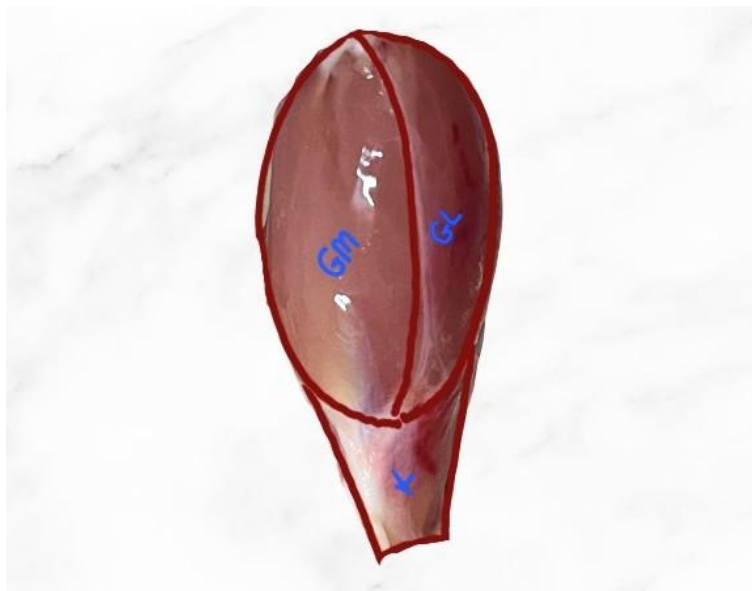


Figura 9. a) Músculo gastrocnêmio dos ratos Wistar. Fonte: Autor.

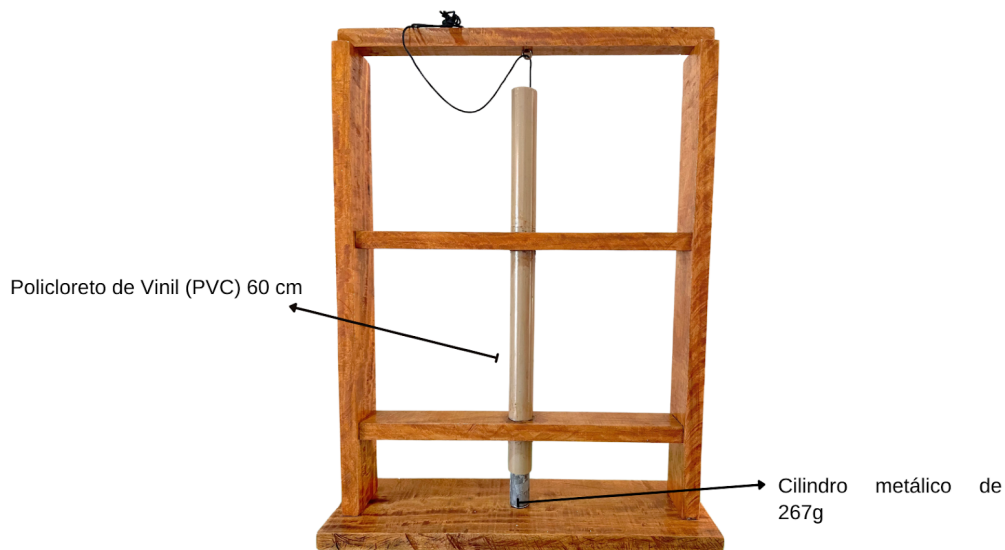


Figura 9. b) Equipamento para a indução da lesão muscular traumática em ratos Wistar. Fonte: Autor.

4.8.5 Tratamento

Os animais foram tratados posteriormente durante 6 dias por via tópica com aplicação do ultrassom terapêutico (UST) ou fonoforese. Os parâmetros do UST ou fonoforese, foram definidos com base em estudos que demonstraram eficácia terapêutica, sendo assim:

- Frequência de 1MHz, pulsado a 20%;
- Intensidade de 0,6 W/cm²;
- Área de Radiação Efetiva (ERA) de 3 cm² (Dos Santos Haupenthal et al., 2020).

A aplicação foi diretamente na região central do gastrocnêmio com movimentos lentos, circulares e uniformes. Foi utilizado o equipamento Sonopulse Special Ibramed (Imbramed Company, Brasil). Em relação a administração via oral do Chronic[®] 250 mg/kg (Grupo NANO+CHR) também ocorreu durante os 6 dias de tratamento.

4.8.6 Avaliação bioquímica dos marcadores de lesão muscular do sangue coletado dos animais

Considerando que a lesão induzida foi classificada como grau I/II, finalizada no sexto dia pós-lesão, os animais foram anestesiados e realizado coleta de 1,0 ml de sangue do plexo retro-orbital, em seguida, o sangue coletado foi centrifugado por 10 minutos a 5.000 rpm, logo,

realizado a análise bioquímica, quantificação dos níveis séricos de Creatina Quinase total (CK) empregando kit CK-NAC Liquiform (Labtest, Minas Gerais, Brasil). As amostras foram analisadas em espectrofotômetro UV-VIS model UVmini-1240 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). Para a análise dos níveis de mioglobina foi realizado utilizando as instruções dos kits reagentes APOTI™ (Acro Biotech Inc. California, EUA). Além disso, foram avaliados os marcadores bioquímicos: Lactato Desidrogenase (LDH), Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST), Proteína C-reativa (PCR), Creatinina, Ácido úrico, Urea, Fosfatase alcalina.

4.8.7 Eutanásia e avaliação histopatológica da lesão traumática

A eutanásia ocorreu de acordo com o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Os animais foram submetidos à técnica de eutanásia padronizada de Anoxia induzida por gás.

As amostras de músculo gastrocnêmio para as análises histopatológicas foram preparadas segundo a técnica descrita por Carvalho et al., (2018), no qual foram desidratadas sucessivamente em álcoois graduados de 70, 80, 90 e 100%, clarificados com xilol e emblocados em parafina a 60 °C. As amostras de tecidos foram seccionadas com espessura de 5 µm com auxílio de micrótomo rotativo semi-automático (modelo CUT 5062 SLEE), posteriormente os cortes foram coradas pelo método Hematoxilina-Eosina (H/E). As lâminas foram analisadas em microscópio óptico Olympus (Modelo: CX31trinocular) em objetiva de 40X e 100X, onde foram observados focos de infiltrado inflamatório no músculo, fibras musculares íntegras e com mionecrose (Sousa et al., 2013).

4.8.8 Análise estatística dos resultados

Os valores foram apresentados como média e desvio padrão. Foi realizada análise de variância (ANOVA One-way) seguida do teste de Tukey para múltiplas comparações. Resultados que apresentaram diferenças de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos entre os grupos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO DE *Cannabis sativa* L.

Na análise química do extrato de *Cannabis sativa* via cromatografia gasosa (**Figura 10**), o pico cromatográfico do canabidiol foi identificado aos 30,54 minutos. O perfil de fragmentação foi confirmado utilizando a biblioteca NIST do cromatógrafo, com 50 mg/mL de CBD e menos de 2 mg/mL de THC. Outros compostos foram identificados, incluindo ésteres metílicos de ácidos graxos de cadeia média utilizados para solubilizar o extrato, sendo que o éster metílico do ácido cáprico apresentou tempo de retenção de 13,75 minutos.

O canabidiol (CBD) emergiu como uma substância promissora devido ao seu potencial analgésico e anti-inflamatório documentado em vários estudos. Este composto não psicoativo, encontrado na planta *Cannabis sativa* L., tem sido extensivamente investigado pelas suas propriedades terapêuticas. (Hill et al, 2017)

Evidências científicas indicam que o canabidiol exerce efeitos moduladores sobre o processo inflamatório, podendo favorecer o reparo tecidual por meio da redução do infiltrado inflamatório e do estresse oxidativo, além de influenciar positivamente a regeneração muscular. Esses efeitos reforçam o interesse pelo uso do CBD em estratégias terapêuticas voltadas ao tratamento de lesões musculares (Burstein, 2015).

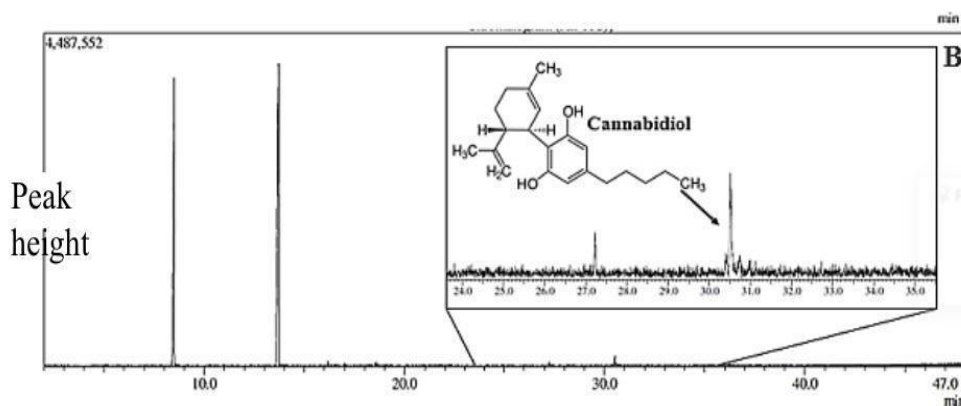


Figura 10 - Perfil cromatográfico do extrato de *Cannabis sativa* L. mostrando o tempo de retenção do canabidiol aos 30,54 minutos

5.2 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE *Bixa orellana* L. (CHRONIC®)

No equipamento, foi injetada uma solução de 3 mg/mL de Chronic® para a quantificação de delta-tocotrienol. A curva de calibração para os tocotrienóis totais (**Figura 11**) baseada no delta-tocotrienol, apresentou um $R^2 = 0,9982$, tendo como equação linear $Y = 1,049e + 007 * X - 1,292 + 006$. A área obtida foi de 2643680 e após realizar o cálculo a concentração de delta-tocotrienol foi de 0,12506 mg/mg de óleo (12,506%).

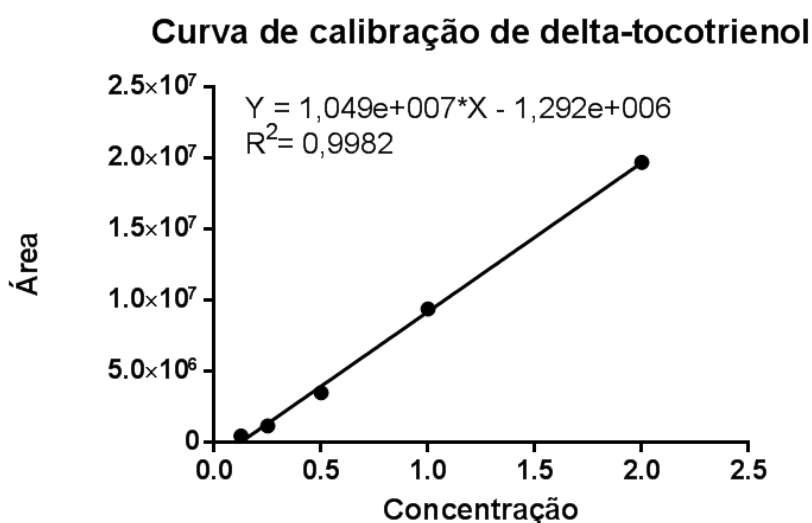


Figura 11 - Curva de calibração de tocotrienóis totais com base no delta-tocotrienol.

No que se trata da curva de calibração para o geranilgeraniol (**Figura 12**) apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9966, descrita pela equação linear $Y = 4,4041e + 007 * X - 1,835e + 006$. A área obtida foi de 22544838 e após realizar o cálculo a concentração de geranilgeraniol foi de 0,40220 mg/mg de óleo (40,220%). Sendo assim, a real porcentagem de delta-tocotrienol no óleo é de 12,506% e de geranilgeraniol é de 40,220%.

Curva de calibração de geranilgeraniol

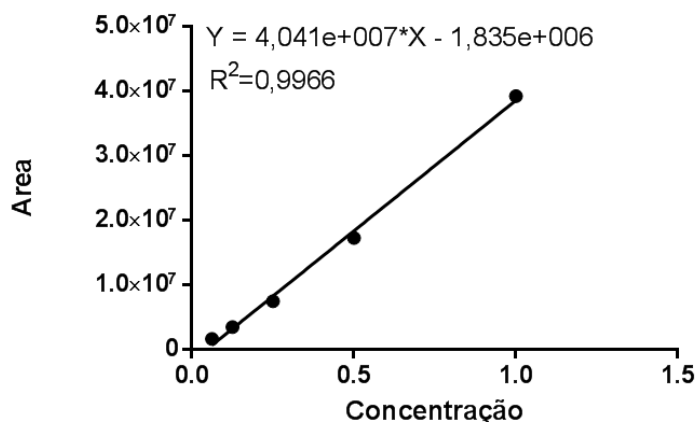


Figura 12 - Curva de calibração obtida para o geranilgeraniol e delta-tocotrienol.

Segundo Qureshi et al. (2015) relata que as sementes de *Bixa orellana* L possuem um rico teor dos bioativos geranilgeraniol e tocotrienóis. Além disso, o autor relata que a fração de delta-tocotrienol (δ -tocotrienol) encontrada na planta é de 90%. Esse valor supera o encontrado por CG/MS do presente estudo, o que pode estar relacionado ao fato de que foi utilizado somente o óleo purificado *Bixa orellana* L e sua porcentagem foi reduzida pelo método de obtenção.

Ao se tratar do geranilgeraniol, principal metabólito ativo da planta, é responsável por 1% do seu peso seco. Pesquisas científicas relatam que os compostos encontrados pelo CG/MS no presente estudo são amplamente utilizados como antioxidante, anticancerígenas, em quadros dislipidêmicos e antiinflamatórios (Akshatha et al., 2011; Peh et al., 2016).

5.3 NANOEMULSÃO E NANOGEL DO EXTRATO DE *Cannabis sativa* L.

A partir do extrato de *Cannabis sativa* L. foi obtida a Nanoemulsão de *Cannabis sativa* (NECS), em seguida foi avaliada a estabilidade durante 30 dias (**Figura 13**) e ao decorrer do período a NECS não apresentou instabilidade de fase e mudança de coloração (branca/opaca). Portanto, foi observado que o diâmetro da gota média variou de 64.3 ± 4.9 nm (1º dia), 106.5 ± 6.0 nm (3º dia) e 104.0 ± 1.3 nm (30º dia) e o índice de polidispersão variou de 0.67 ± 0.13 Pdi (1º dia), 0.71 ± 0.11 (3º dia) e 0.34 ± 0.03 Pdi (30º dia) e o potencial zeta variou de -2.27 ± 0.26 mV (1º dia), -2.57 ± 0.17 mV (3º dia) e -4.48 ± 0.29 mV (30º dia).

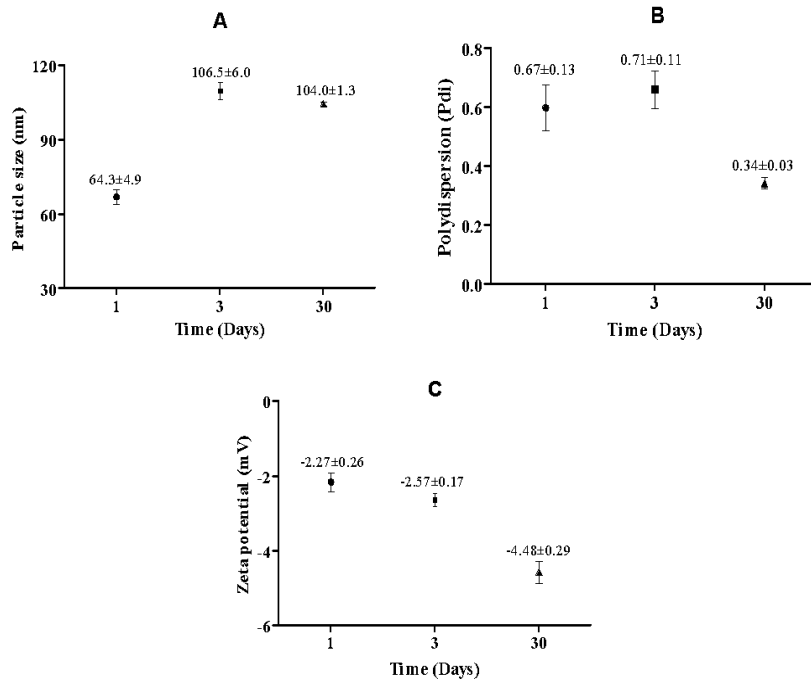


Figura 13 - Análise do tamanho médio (nm) (A), Índice de polidispersão (B) e potencial Zeta (C) da NECS, analisadas no período de 1, 3 e 30 dias após a obtenção. Apresentando média e desvio-padrão (n=3).

A nanoemulsão auxilia no transporte eficaz de substâncias ativas através de uma membrana semipermeável e, devido à grande área de superfície, a penetração aumenta no sistema de emulsão (Preeti, 2023). De acordo com Carvalho e colaboradores (2021), as formulações contendo extrato de *Cannabis sativa* L. com resultados significantes variaram de 275.6±5.75 a 129.3±0.15 nma com índice de polidispersão de 0.96±0.08 a 0.22± 0.008, e posteriormente não apresentaram instabilidade a partir do estresse térmico. Esse estudo corrobora com os resultados obtidos a partir da avaliação do tamanho das partículas e índice de polidispersão do atual estudo, respectivamente.

Segundo Pereira et al., (2016), as nanoemulsões são sistemas estáveis com tamanhos de gotículas na faixa de 20-200 nm, logo, os dados obtidos foram inferior ao estabelecido pela literatura, variando de 64.3±4.9 a 106.5±6.0.

Além disso, de acordo com Escribano-Ferrer et al. (2013), o canabidiol apresenta limitações farmacocinéticas, como baixa solubilidade e biodisponibilidade, as quais podem ser superadas por meio do desenvolvimento de sistemas nanoestruturados, capazes de melhorar a

estabilidade do composto e otimizar sua entrega tecidual, potencializando seus efeitos terapêuticos.

Posteriormente a avaliação da estabilidade da nanoemulsão de *Cannabis sativa* L. realizou-se a incorporação em gel. A concentração final resultou-se em 20% de nanoemulsão de *Cannabis sativa* em gel Carbopol®, a solução final não apresentou separação de fases e alteração de estabilidade ao longo dos testes, sendo assim, facilitou o deslizamento do transdutor do ultrassom na aplicação.

5.4 AVALIAÇÃO DO EDEMA MUSCULAR

A lesão muscular do tipo contusão é caracterizada por uma série de fatores, tais como desorganização das miofibrilas, ruptura de mitocôndria e retículo sarcoplasmático, interrupção da continuidade do sarcolema, autodigestão e necrose celular, além de disfunção microvascular progressiva e inflamação local. Essas ações podem causar danos às fibras musculares e/ou ao tecido conjuntivo, sendo indiretamente evidenciada pela queda na produção de força muscular, diminuição da amplitude de movimento (ADM), aumento da dor muscular de início tardio (DMIT), atividade plasmática do CK (Pérez-Sánchez et al., 2023).

Neste estudo, o mecanismo de lesão muscular (Contusão) grau I e/ou grau II no músculo gastrocnêmio mostrou-se efetiva, visto que foi possível visualizar edema no grupo NTD ao decorrer do experimento (**Figura 14**), sendo evidenciado no gráfico de Área sobre a Curva na **figura 15** mostrando aumento do volume muscular. Os grupos NANO e NANO+CHRO apresentaram resultados eficazes em relação ao grupo DEX, com redução do edema maior que o esperado, dessa forma, o volume do músculo foi reduzido principalmente a partir do segundo dia de tratamento.

Acerca do controle positivo, foi escolhida a Dexametasona, visto que além de ser relatada na literatura, tem a associação aos receptores intracelulares de glicocorticóides, sendo assim, resulta na alteração da expressão gênica de diversas citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6 e TNF- α . Isso reduz a inflamação, o edema e a migração de células imunes para o local da lesão, contribuindo para o controle da resposta inflamatória desregulada. É ideal para a comparação com o mecanismo de ação dos compostos utilizados no presente estudo (Madamsetty et al., 2022).

Nesse contexto, Carvalho e colaboradores (2020) avaliaram as propriedades anti-inflamatórias do óleo de emulsão de *Cannabis sativa* L. Suas descobertas revelaram que o tratamento reduziu os níveis de CK e reduziu significativamente a contagem de células inflamatórias, promovendo a regeneração muscular. Ademais, o CBD reduz a expressão do gene TNF- α e a secreção do gene IL-6. Além disso, os demais canabinóides demonstraram considerável ação anti-inflamatória ao inibir a síntese de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias e podem ser úteis no tratamento de doenças relacionadas à inflamação. O que corrobora com os achados no presente estudo, no qual, os grupos tratados com NECS apresentaram atividade anti-inflamatória eficaz (Oriola, 2024).

Corroborando esses achados, Santos e colaboradores (2024) em seu estudo houve resultados significativos ($p < 0,001$) na redução da dor e ação anti-inflamatória dos grupos tratados com o extrato de *Cannabis sativa* L. associado ao Chronic[®]. É demonstrado que o uso do Chronic[®] é essencial e cada vez mais evidente em relação a proteção do sistema musculoesquelético.

A redução significativa da inflamação no grupo NANO+CHR dá-se pelo tratamento associado ao nutracêutico Chronic[®] a longo prazo, sendo assim, é evidenciado que o geranilgeraniol e tocotrienóis também podem diminuir a inflamação. O geranilgeraniol suprime a expressão da cinase-1 associada ao receptor de interleucina-1 (IRAK1) e do fator 6 associado ao receptor do fator de necrose tumoral (TRAF6), consequentemente prevenindo a ativação excessiva de NF- κ B na resposta inflamatória induzida por LPS em células THP-1. Além disso, acredita-se que os tocotrienóis exerçam seus efeitos também em parte pela diminuição da cascata inflamatória (Batista et al, 2022).

À vista disso, tem-se como destaque o geranilgeraniol (GGOH) na participação fundamental em processos como a isoprenilação de proteínas G, dentre elas destaca-se a regulação da expressão gênica pelas proteínas Ras, que promovem direcionamento, ancoragem, fusão e exocitose, e Rho, que regulam a formação de fibras de estresse da actina cortical e Rap, estimulam o crescimento muscular. No que se refere ao Delta-tocotrienol, pode modular a renovação de células satélites através da regulação da sinalização de p53, ciclo celular, via de sinalização Wnt e expressão de MRF. Além disso, podem prevenir a senescência replicativa dos mioblastos através da sua ação antioxidante (Wong et al, 2018).

No presente estudo, o grupo UST apresentou resultados semelhantes ao grupo não tratado, logo, também descrito no estudo de Lima e colaboradores (2020), no qual referiram que os grupos tratados com nanodispersões tiveram maior redução em relação ao grupo de UST. Em vista disso, Da Silva (2017) retratou que ao realizar o uso do US a um gel enriquecido com *Illex paraguariense*, o grupo da Fonoforese foi melhor estatisticamente. Além do mais, os dados corroboram com o presente estudo, **(Figura 15)**, em razão de que os grupos tratados com fonoforese apresentaram redução de $p < 0,001$. Esses achados reforçam o efeito anti-inflamatório da fonoforese associada ao nanogel e ao nutracêutico Chronic®.”

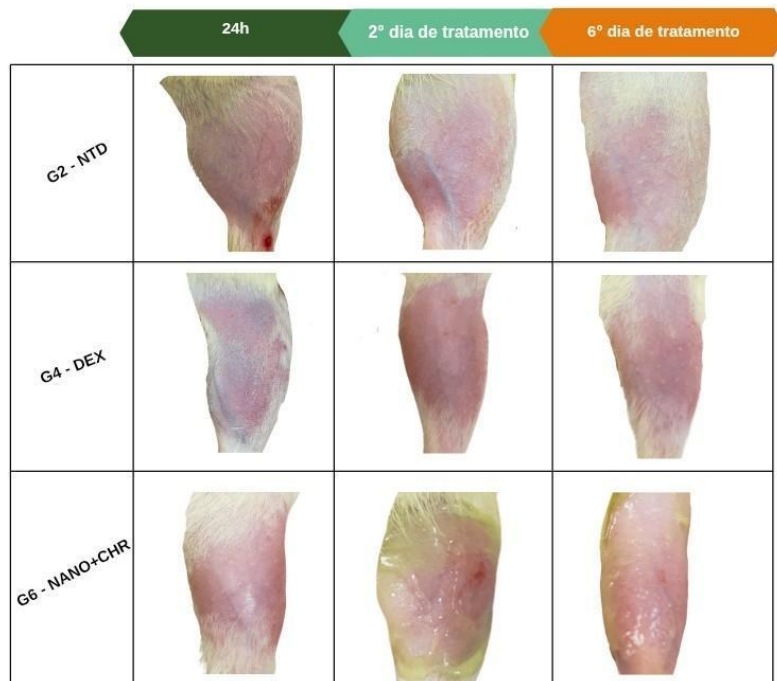


Figura 14 - Imagem representativa do aspecto macroscópico do músculo Gastrocnêmio em grupos NTD, DEX, NANO+CHR, respectivamente. Observa-se que a diminuição da lesão é significativa em relação ao NTD que ainda permanece com edema após 6 dias de tratamento.

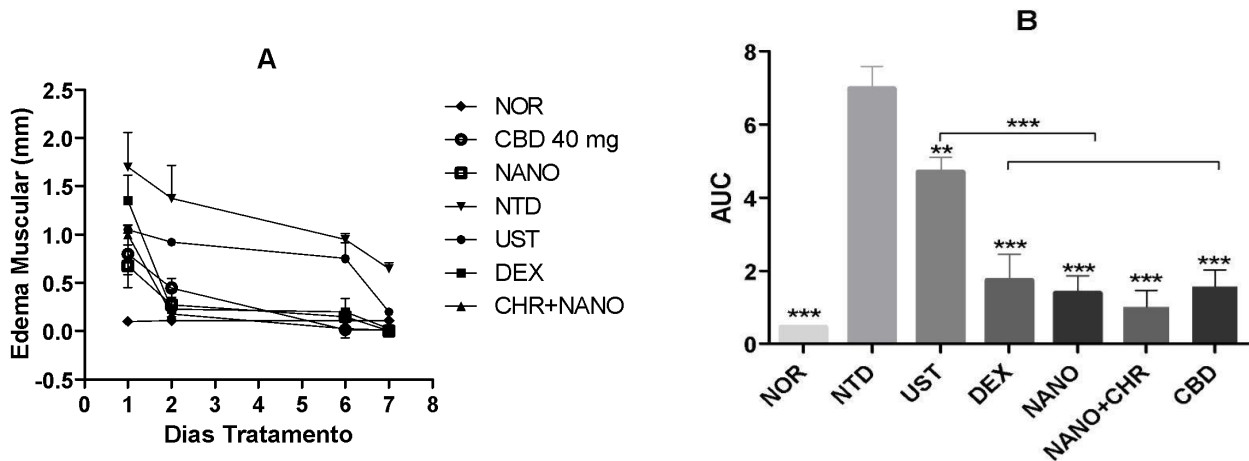


Figura 15. Efeito do tratamento com ultrassom terapêutico (UST) e fonoforese com dexametasona (DEX: 0,5 mg/kg), nanogel de *Cannabis sativa* L., nanogel de *Cannabis sativa* L. e Chronic[®], extrato de CBD, na inflamação induzida por lesão traumática no músculo gastrocnêmio direito de ratos. A Evolução do edema no músculo (mm) em função do tempo (dias). Fig B. A área dos resultados dos dias de tratamento são apresentados como média ± DP (n = 4 animais/grupo). As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância (ANOVA) unidirecional, seguida pelo teste de Tukey. ***($p < 0,001$), resultado estatisticamente significativo versus grupo não tratado (NTD). NOR, grupo normal.

5.8 ANÁLISE BIOQUÍMICA DOS MARCADORES DE LESÃO MUSCULAR

Assim foi avaliado também os níveis séricos da enzima creatina quinase (CK), mioglobina, LDH, ALT, AST, PCR, creatinina, ácido úrico, ureia, fosfatase alcalina para mensurar a dimensão da inflamação e dano tecidual ocasionado pela contusão no músculo gastrocnêmio.

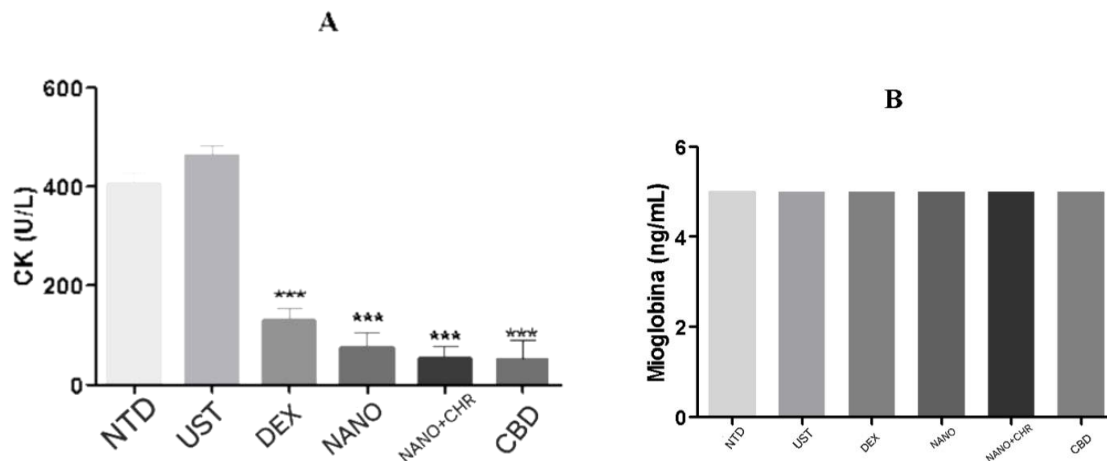


Figura 16 - Efeito do tratamento com UST, fonoforese de DEX (0,5 mg/kg), NANO (20 mg/kg), NANO+CHR e CBD (40mg/kg) sobre os níveis de (A) creatina quinase (CK) e (B) mioglobina sérica dos ratos com infiltrado inflamatório muscular a partir de lesão muscular no músculo gastrocnêmio. Resultados são apresentados como a média \pm D.P (n=5 animais). As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância one-way (ANOVA), seguida do teste de Tukey. ***($p < 0.001$), Resultado estatisticamente significativo versus grupo NTD.

A enzima Creatina Quinase (CK) tem como principal função catalisar a conversão de creatina em fosfocreatina, um processo que fornece energia para as células musculares e nervosas durante o período de alta demanda energética, como citado, é responsável por medir o nível de lesão muscular quando ocorre um estresse tecidual. Segundo Sharp e colaboradores (2020), os danos musculares levam ao aumento significativo dos níveis de CK.

Os níveis de CK do grupo DEX (**Figura 16. A**) apresentaram redução abaixo de 200 U/L, além disso, os grupos NANO, NANO+CHR e CBD acompanharam o mesmo nível de redução da lesão muscular. O resultado final do grupo de controle negativo e tratados com o gel do UST, apresentaram níveis acima de 400 U/L, porém, tais alterações não se refletiram em danos histopatológicos severos, podendo ser explicada pelo fato de que a CK é um marcador bioquímico altamente sensível e precoce de lesão muscular, elevando-se rapidamente após o estresse tecidual. Por outro lado, a análise histopatológica foi realizada no sexto dia pós-lesão, período no qual o tecido muscular já se encontrava em fase avançada de reparo e remodelamento, com redução do infiltrado inflamatório e reorganização das fibras musculares (Peake et al., 2017; Tidball, 2021).

Conforme, Gonçalves e colaboradores (2023) os grupos tratados com dexametasona e fonoforese em nanogel de óleo volátil de *Rosmarinus officinalis* demonstraram uma redução significativa ($p < 0,01$) nas concentrações de CK em comparação com os grupos não tratados. Além disso, Moniz e colaboradores (2017) observaram níveis elevados de CK no grupo NTD, o que reforça a ocorrência de dano tecidual significativo, uma vez que esse aumento é um forte indicativo de lesão muscular. Entretanto, esses achados diferem dos resultados observados no presente estudo.

A Mioglobina Sérica é uma hemoproteína citoplasmática composta por uma única cadeia de polipeptídeo de 154 aminoácidos. Inativa o óxido nítrico e liga-se reversivelmente com o oxigênio e tampona-o, facilitando o seu transporte até a mitocôndria, além de servir como um reservatório de oxigênio em condições de anóxia e hipóxia, e aumentar a fosforilação oxidativa (Matos, 2011, Palka et al., 2023).

Os níveis de Mioglobina (**Figura 16 B**) no sangue foram baixos, não detectáveis pelo exame, os grupos permaneceram com a mesma quantidade, dessa forma, explica-se pelo grau da lesão muscular ser de menor estresse ao tecido, ou seja, não havia danos musculares para ocorrer alterações celulares (Saita et al, 2023).

Parâmetros	NTD	UST	DEX	NANO	NANO+CHR	CBD
LDH (mg/dl)	746±42,09	524,3±6,02*	607±15,1*	546±42,0*	728±18,8	662,5±27,98
ALT (U/L)	72±3,23	50,3±4,9*	55,6±3,7*	48±1,52*	61,7±3,0*	61,5±2,51*
AST (U/L)	71±5,50	55,6±5,6*	61±1,2*	53±2,3*	70,7±4,99	65±2,94
PCR	0,76±0,04	0,49±0,02*	0,64±0,1*	0,53±0,068	0,44±0,32*	0,88±0,05
Creatinina (mg/dl)	0,85±0,01	0,56±0,01*	0,53±0,08*	0,55±0,01*	0,6±0,10*	0,55±0,05*
Ácido úrico (mg/dl)	8,3±0,34	4,0±0,1*	4,73±0,3*	4,5±0,5*	6,52±0,38	5,3±0,25*
Urea (mg/dl)	52,5±12,19	38,3±1,3	40,1±0,6	42±3,8	43,3±2,59	40±4,51
Fosfatase alcalina	182±13,65	97,6±7,02*	94,3±6,4*	100,6±9,07*	138,5±22,78*	117±6,18*

Tabela 1 - Efeito do tratamento com UST e fonoforese de DEX (0,5 mg/kg), NANO (20mg/kg) e CBD (40mg/kg) sobre os parâmetros bioquímicos dos animais com lesão muscular induzido por impacto mecânico no músculo gastrocnêmio. Resultados são apresentados como a média ± D.P (n=5 animais). As diferenças entre os grupos foram analisadas por meio da análise de variância one-way (ANOVA), seguida do teste de Tukey. *($p < 0,05$), Resultado estatisticamente significativo versus grupo NTD (G2).

Conforme a **Tabela 1** é possível identificar os valores de LDH do grupo UST ($524\pm 6,02$) e do grupo DEX ($607\pm 15,1$) apresentaram menor impacto, sugerindo menor dano celular ou menor atividade metabólica em comparação com o grupo de maior níveis de LDH, sendo grupo NTD ($746\pm 42,09$). Os dados de ALT e AST obtiveram resultados semelhantes, variando de ($50,3\pm 4,9$) resultados do grupo UST e ($55,6\pm 5,6$) do grupo NANO, o que indica permanência da função hepática.

Os grupos tratados com NECS alcançaram resultados semelhantes e com menores danos inflamatórios, em relação ao PCR o grupo NANO + CHR ($0,44\pm 0,32$ mg/dL), refletiu menor inflamação sistêmica. Seu uso pode inibir eficazmente o estresse oxidativo e a inflamação induzidos por tais doenças, com diminuição significativa de PCR, inibição da secreção de citocinas inflamatórias e da via NF- κ B, fator chave dos processos inflamatórios e, portanto, diminuindo significativamente a ativação de macrófagos e fibroblastos sinoviais, promovendo prevenção da infiltração de células T (Vishalakshi et al., 2014).

A Fosfatase Alcalina do grupo DEX foi ($94,3\pm 6,4$), e os demais apresentaram dados em até ($524,3\pm 6,02$), isto é, apesar do dano tecidual a função hepática e óssea permaneceram no mesmo nível.

No estudo de Mello (2016) é retratado que estas enzimas são utilizadas como marcadores de dano musculotendíneo por serem citoplasmáticas e impermeáveis à membrana plasmática, apresentando aumento de seus valores séricos. Níveis aumentados dessas moléculas no líquido extracelular podem indicar uma alteração da permeabilidade da membrana ou rompimento desta, sendo provocada pelo estresse biomecânico.

O uso de formulações farmacêuticas com agentes anti-inflamatórios combinados com UST é uma alternativa eficaz para o tratamento de lesões musculares, visto que pode aumentar o desempenho e contração muscular, relaxamento vascular e prevenção da fadiga, sem causar efeitos adversos, evidenciado nos grupos com melhores resultados de redução enzimática dos marcadores da lesão muscular.

Dessa forma, observa-se que o grupo não tratado apresentou maiores valores de LDH, ácido úrico e fosfatase alcalina. Quanto ao PCR, o melhor resultado foi observado no grupo

NANO+CHR. Ademais, os dados obtidos permaneceram dentro dos valores de normalidade, o que é esperado para o tipo de teste e período de coleta realizada.

5.9 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO MÚSCULO GASTROCNÊMIO

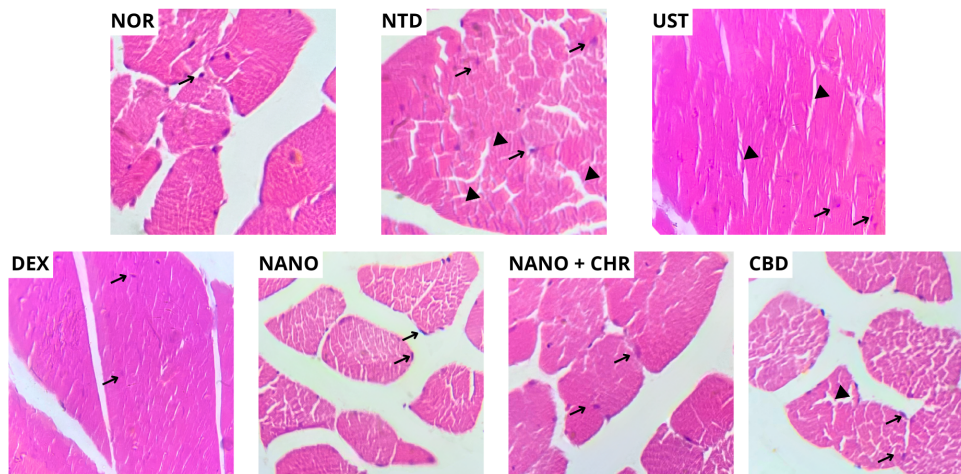


Figura 17. Análise histopatológica do efeito do tratamento com UST, DEX, NANO, NANO+CHR e CBD sobre lesão muscular induzida por impacto mecânico no músculo gastrocnêmio direito de ratos Wistar. Setas pretas: Infiltrado inflamatório; Cabeças de setas: Destruição de fibras musculares.

Na análise do músculo gastrocnêmio-D (**Figura 17**) não foram observados danos severos, como, grande quantidade de grau de infiltrados e presença de necrose. Apesar disso, nos grupos que apresentaram valores reduzidos de CK, sendo os grupos DEX, NANO, NANO+CHR e CBD, observa-se a quantidade maior de de fibras musculares normais, sugestivas de regeneração tecidual e discreto infiltrado leucocitário, sendo assim, reforça o efeito anti-inflamatório nestes tratamentos.

Dessa forma, as amostras foram coletadas após os dias de tratamento, o que reduz a presença de infiltrados no tecido. Após uma lesão muscular, ocorre uma resposta inflamatória que é crucial para a regeneração tecidual. Nos primeiros dias, a infiltração de neutrófilos é predominante, seguida por macrófagos que desempenham papéis distintos, os macrófagos M1, pró-inflamatórios, ajudam na remoção de detritos celulares, enquanto os macrófagos M2,

anti-inflamatórios, promovem a regeneração muscular (Tidball, 2021). Além disso, há inúmeras evidências de que fármacos anti-inflamatórios podem atuar na redução da formação de mediadores pró-inflamatórios e no controle do edema durante o uso prolongado como mostrado no estudo, ou seja, o tecido apresentou menor dano por ser analisado após os seis dias de tratamento (Carvalho,2018).

6 CONCLUSÃO

De acordo com as metodologias aplicadas e resultados obtidos:

- A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS) do extrato de *Cannabis sativa* L. confirmou a presença dos compostos esperados;
- No óleo de *Bixa orellana* L., foram identificadas concentrações de 12,506% de delta-tocotrienol e 40,220% de geranilgeraniol;
- A nanoemulsão formulada com o extrato de *Cannabis sativa* L. apresentou adequada estabilidade físico-química, sem alteração de coloração e com tamanho de partícula inferior a 250nm como indicado na literatura;
- O nanogel apresentou uma concentração de 20% de nanoemulsão de *Cannabis sativa* L.;
- Os grupos tratados com fonoforese do nanogel de *Cannabis sativa* L. demonstraram eficácia na redução do edema muscular, bem como nas concentrações séricas de creatina quinase (CK) e proteína C-Reativa (PCR);
- Os grupos tratados com a nanoemulsão apresentaram um significativo número de fibras musculares morfológicamente preservadas, indicando evidente grau de regeneração tecidual;
- Do ponto de vista bioquímico, observou-se que a fonoforese desempenha papel relevante no aumento da permeabilidade cutânea, na aceleração do processo cicatricial e na regeneração celular, sendo que o grupo tratado com o nutracêutico Chronic® apresentou os melhores resultados;
- Os achados da análise histopatológica mostraram-se compatíveis com os descritos na literatura.

Conclui-se que a associação entre o nanogel de *Cannabis sativa* L. e o nutracêutico Chronic® exerce efeito sinérgico na regeneração tecidual, apresentando-se como uma estratégia terapêutica promissora e viável para futuros estudos complementares voltados à recuperação musculoesquelética. Os achados sugerem potencial aplicação na modulação do processo inflamatório, na preservação estrutural das fibras musculares e na melhora da funcionalidade tecidual a longo prazo.

REFERÊNCIAS

- ABREU, D. G. et al. Níveis de ck e sua relação com o desgaste físico em uma temporada de futebol. **Fiep Bulletin** - Volume 85 - Special Edition - Article I – 2015.
- AGGARWAL BB. et al. Tocotrienóis, a vitamina E do século XXI: seu potencial contra o câncer e outras doenças crônicas. **Biochem Pharmacol.** 2010. 80(11):1613-1631
- ALBUQUERQUE, V. R. et al. Efeitos terapêuticos da cannabis medicinal na dor crônica: uma abordagem baseada em evidências. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 7, n. 2, 2025.
- AKSHATHA, V. et al. Food, ethanobotanical and diversified applications of *Bixa orellana* L.: a scope for its improvement through biotechnological mediation. **Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences**, v. 1, n. 4, p. 9-31, 2011.
- ANAND, P. et al. Design of curcumin-loaded PLGA nanoparticles formulation with enhanced cellular uptake, and increased bioactivity in vitro and superior bioavailability in vivo. **Biochemical Pharmacology**, v. 79, n. 3, p. 330-338, 2010.
- ANDRE, C. M. et al. *Cannabis sativa*: The Plant of the Thousand and One Molecules. **Frontiers in Plant Science**, 7, 19. 2016.
- BANDEIRA, F. et al. Pode a termografia auxiliar no diagnóstico de lesões musculares em atletas de futebol? **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 18, n. 4, p. 246-251, 2012.
- BANDEIRA, F. et al. A termografia no apoio ao diagnóstico de lesão muscular no esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 20, n. 1, p. 59-64, 2014.
- BATISTA, M. A. et al. Potential of the compounds from *Bixa orellana* purified annatto oil and its granules (Chronic®) against dyslipidemia and inflammatory diseases: in silico studies with geranylgeraniol and tocotrienols. **Molecules**, v. 27, n. 5, p. 1584, 2022.
- BARROSO, G. C.; THIELE, E. S. Lesão muscular nos atletas. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 46, n. 4, p. 354–358, 2011.
- BORGES, F. S. *Dermato-Funcional: modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas*. Sao Paulo, Ed. Phorte, 2006.
- BORILLE, T. B. et al. *Cannabis sativa*: a systematic review of plant analysis. **Forensic Science International**, v. 278, p. 1-10, 2017.
- BRASIL. Resolução RDC nº 14, de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 56**, 05 abr. 2010.

BRUNING, R, C, M. et al. Ultrassom Terapêutico no Tratamento da Lesão Muscular: Revisão Sistemática. **Revista Pesquisa em Fisioterapia**. 2016 Nov; 6(4):455-461

BURSTEIN, S. Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 7, p. 1377–1385, 2015.

CARNEIRO, F, M. et al. Tendências dos Estudos com Plantas Medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais** – UEG/Câmpus de Iporá, v.3, n. 2, p.44-75 – jul/dez 2014

CAVALCANTE J. G. G. et al. Uso da fonoforese para alívio da dor e inflamação em doenças do sistema musculoesquelético. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 37, p. e1664, 29 nov. 2019.

CARVALHO, H. O. et al. Effect of the treatment of *Copaifera duckei* oleoresin (copaiba) in streptozotocin-induced diabetic rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 724–731, 2018.

CARVALHO, H. O. et al. Actions of *Cannabis sativa* L. fixed oil and nano-emulsion on venom-induced inflammation of *Bothrops*. **Inflammopharmacology**, v. 29, p. 123–135, 2021.

CHATZIDAKI, M.; MITSOU, E. Advancements in nanoemulsion-based drug delivery across different administration routes. **Pharmaceutics**, v. 17, n. 3, p. 337, 2025. DOI: 10.3390/pharmaceutics17030337

CHEN, L.; DENG, H.; CUI, H. et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. **Frontiers in Immunology**, Lausanne, v. 13, e875832, 2022. DOI: 10.3389/fimmu.2022.875832.

CHEN, L. et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. **Oncotarget**. 2017 Dec 14;9(6):7204-7218. doi: 10.18632/oncotarget.23208

CHEN, T.C. et al. Delayed onset muscle soreness and repeated bout effect after six bouts of eccentric exercise of the elbow flexors. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 29, n. 8, p. 1241-1250, 2019.

CHEUNG, K. et al. Delayed onset muscle soreness: treatment strategies and performance factors. **Sports Medicine**, v. 33, n. 2, p. 145–164, 2003.

CHIN, K. Y.; EKEUKU, S. O.; TRIAS, A. The role of geranylgeraniol in managing bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 878556, 2022.

DA CRUZ, R, M, P. et al. Relatório de Estágio e Monografia Intitulada " Nutracêuticos: Enquadramento Atual e Oportunidades". 2022. Dissertação de Mestrado. Universidade de Coimbra (Portugal).

DA SILVA, C, J; SANTOS, Franciele Cruz Rocker; DA SILVA, Talita Oliveira. Nutracêuticos: possibilidades de uso no tratamento do melasma. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 40, n. especial, p. 91-111, 2024.

DA SILVA, G, N, A et al. Terapia por Ultrassom na Reabilitação Muscular: Revisão. **Perspectiva, Erechim**. v. 46, n. 173, p. 19-30, março/2022 / DOI: <https://doi.org/10.31512/persp.v.46.n.173.2022.208.p.19-3208>, p 19-30

ESCRIBANO-FERRER, E.; BROWN, D. R.; et al. Cannabidiol for neurodegenerative disorders: important new clinical applications for this phytocannabinoid? **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 75, n. 2, p. 323–333, 2013.

FARCIC, S, T, et al. Aplicação do ultrassom terapêutico no reparo tecidual do sistema musculoesquelético. **Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde**, v.37, n. 3, p. 149-153, Set/Dez 2012

FORCINA, L.; COSENTINO, M.; MUSARÒ, A. Mechanisms regulating muscle regeneration: insights into the role of inflammation. **Cells**, v. 9, n. 5, p. 1–21, 2020.

FERRANDES, T. L. et al. Lesão muscular: fisiopatologia, diagnóstico, tratamento e reabilitação. **Revista Brasileira de Ortopedia**, 2011

FERRARI, J, R, et al. Processo de Regeneração na Lesão Muscular: Uma Revisão. **Fisioterapia em Movimento**, Curitiba, v.18, n.2, p. 63-71, abr./jun., 2005

FERRERO-MILIANI, L. et al. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. **Clin Exp Immunol**. 2007;147:227–235. doi: 10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x.

FERREIRA, M. R. A. et al. Nanoemulsões: propriedades, métodos de obtenção e aplicações em alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 76, n. 1, p. 20-30, 2021

FRANÇA, I. S. X. DE. et al.. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p. 201–208, mar. 2008.

GONÇALVES, D. E. S. et al. Rosmarinus officinalis volatile oil nanogel modulated muscle damage induced by Bothrops moojeni venom: a phonophoresis method. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2023.

GUIRRO, E.C. et al. Efeitos da estimulação ultra-sônica pulsada de baixa intensidade no processo cicatricial: estudo experimental em ratos. **Revista Ciência & Tecnologia**, n.8, p.37-47, 1995.

HAUPENTHAL, R. D. et al. (2022). Intra-articular Treatment with Triamcinolone Hexacetonide Associated with Gold Nanoparticles Reduces Cartilage Degeneration in an Animal Model of Osteoarthritis. **Current Drug Targets**. 24. 10.2174/1389450124666221212090319.

HALE, T. et al. Transferência de cannabis inalada para o leite materno humano. **Breastfeeding Medicine**, v. 13, n. 5, p. 314-320, 2018.

Hill, K. P. et al. *Cannabis* e dor: uma revisão clínica. Em **Cannabis e pesquisa sobre canabinoides** (Vol. 2, Número 1, p. 96–104). NLM (Medline).
<https://doi.org/10.1089/can.2017.0017>

HO, H. J. et al. Geranylgeraniol enhances testosterone production via the cAMP/protein kinase A pathway in testis-derived I-10 tumor cells. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 82, n. 3, p. 456-467, 2018.

HONÓRIO, K. M. et al. Aspectos terapêuticos de compostos da planta *Cannabis sativa*. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 318-325, 2006.

HORTÊNCIO, M. A. C. O uso da fonoforese em doenças do sistema musculoesquelético. **FIEP Bulletin**, v. 94, 2024. DOI: 10.16887/fiepbulletin.v94i1.6891.

HOTWANI, K., BALIGA, S. E SHARMA, K. Fitodontologia: utilização de plantas medicinais. **Revista de Medicina Complementar e Integrativa**, 0(0). 2014, doi:10.1515/jcim-2013-0015

JESSE, M. M.; BLAIR, L. M.; KIM, T. S. Cellular and molecular mechanisms of skeletal muscle regeneration after injury. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 41, n. 5–6, p. 315–329, 2024. DOI: 10.1007/s10974-024-09512-8.

JOURDAN, T. et al. CB1 Antagonism exerts specific molecular effects on visceral and subcutaneous fat and reverses liver steatosis in diet-induced obese mice. **Diabetes** 59, 2010. 926–934.

KAUHANEN, S.; LEIVO, I.; MICHELSSON, J. E. Early muscle changes after immobilization: an experimental study on muscle damage. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 297, p. 44-50, 1993.

LATIF, R.; NAWAZ, T. Medicinal plants and human health: a comprehensive review of bioactive compounds, therapeutic effects, and applications. **Phytochemistry Reviews**, v. (publicação 2025), p. (artigo publicado em novembro de 2025), DOI: 10.1007/s11101-025-10194-7.

LEE, K. L.; ZHOU, Y. Quantitative Evaluation of Sonoforesis Efficiency and Its Dependence on Sonification Parameters and Particle Size.; 34: 519-526. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25715372>>.

LIMA, H. S. Anti-inflammatory potential of the oleoresin of *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer - Leguminosae. 2015. 82 p. Dissertação de Mestrado em Biociências. Programa de Pós Graduação em Biociências. Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, 2015.

LIMA, P, C, T. Desenvolvimento De Nanogel De *Copaifera Reticulata* Sobre A Lesão Muscular Em Ratos Usando Fonoforese. 2019. **Saúde e Pesquisa**, Maringá (PR). Curitiba-Paraná. DOI: 10.17765/2176-9206.2020v13n1p181-192

LIMA, P, C, T. Efeitos Do Óleo-Resina E Nanogel De *Copaifera Reticulata* Ducke Associada A Fonoforese Sobre Biomarcadores Séricos De Lesão Muscular Esquelética Em Ratos Wistar. 88p. Dissertação de Mestrado no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. 2017. Macapá-AP.

LIMA, T.C.P. et al. Desenvolvimento de nanogel de *Copaifera reticulata* sobre a lesão muscular em ratos usando fonoforese. **Saúde e Pesquisa**, v. 13, p. 181-192, 2020.

MACKIE, K; Stella, N. “Cannabinoid receptors and endocannabinoids: evidence for new players, ”**The AAPS Journal**, vol. 8, no. 2, article 34, pp. E298–E306, 2006.

MADAMSETTY, V, S. Dexamethasone: Insights into Pharmacological Aspects, Therapeutic Mechanisms, and Delivery Systems. **ACS Biomater Sci Eng**. 2022 May 9;8(5):1763-1790. doi: 10.1021/acsbiomaterials.2c00026

MARINHO, P. Long-term effects of adolescent cannabis use and its interaction with schizophrenia. **Inspiring Minds Showcase**, 2023.

MARTINS, J. et al. Biochemical and physiological events involved in responses to the ultrasound used in physiotherapy: a review. **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 48, n. 12, p. 2417–2429, 2022. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2022.07.009.

MARTINES, M.U. et al. O efeito do ultra-som em reações químicas. **Química Nova**, v.23, n.2, p.251-256, 2000.

MATHEUS, J. P. C. et al.. Análise biomecânica dos efeitos da crioterapia no tratamento da lesão muscular aguda. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 14, n. 4, p. 372–375, jul. 2008.

MCCULLY, K.S. Chemical Pathology of Homocysteine VIII. Effects of Tocotrienol, Geranylgeraniol, and Squalene on Thioretinaco Ozonide, Mitochondrial Permeability, and

Oxidative Phosphorylation in Arteriosclerosis, Cancer, Neurodegeneration and Aging. **Ann. Clin. Lab. Sci.** 2020, 50, 567–577.

MEDVEDEV, O.; Ivanova, A.; Medvedeva, N. Biological properties of tocotrienols. **Vopr. Pitan.** 2018, 87, 5–16.

MEDZHITOV, R. The spectrum of inflammatory responses. **Nature**, Londres, v. 454, p. 428–435, 2021. DOI: 10.1038/s41586-021-03330-3.

MICHELE, D. E. Mechanisms of skeletal muscle repair and regeneration in health and disease. **The FEBS Journal**, v. 289, n. 21, p. 6460–6462, 2022. DOI: 10.1111/febs.16577.

MONIZ, MS et al. Rhabdomyolysis as a manifestation of a metabolic disease: a case report. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 29, 2017.

MORAES, F. B. De . et al.. Estudo anatômico do músculo gastrocnêmio medial visando transferência muscular livre funcional. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 42, n. 8, p. 261–265, ago. 2007.

MÜLLER, A, S et al. Ultrassom terapêutico: novo método de verificação utilizando transdutor de pressão. **Disciplinarum Scientia**. Série: Naturais e Tecnológicas, Santa Maria, v. 23, n. 1, p. 49-58, 2022.

Nosaka, K. et al. Evaluation of muscle damage in athletes. **Journal of Sports Sciences**, v. 20, n. 8, p. 619-627, 2002.

OLSSON, D. C. et al.. Ultra-som terapêutico na cicatrização tecidual. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p. 1199–1207, jul. 2008.

ORIOLA, A, O.; KAR, P; OYEDEJI, A, O. Cannabis sativa as an herbal ingredient: problems and prospects. **Molecules**, v. 29, n. 15, p. 3605, 2024. DOI: 10.3390/molecules29153605. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39125010/>

OSTROWSKI, Kirsten. et al.. Role of cytokines in muscle injury and repair. **Journal of Applied Physiology**, v. 83, n. 5, p. 1499–1505, 2001.

PAŁKA, T. et al. The Levels of Markers of Muscle Damage, Inflammation and Selected Heat Shock Proteins after Pulsatile Exercise at Different Ambient Temperatures. **Applied Sciences**, v. 13, n. 16, p. 9381, 2023. DOI: 10.3390/app13169381

PEAKE, J. M.; NEUBAUER, O.; DELLA GATTA, P. A.; NOSAKA, K. Muscle damage and inflammation during recovery from exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 122, n. 3, p. 559–570, 2017. DOI: 10.1152/jappphysiol.00934.2016.

PEH, HONG YONG et al. Vitamin E therapy beyond cancer: Tocopherol versus tocotrienol. **Pharmacology & therapeutics**, v. 162, p. 152-169, 2016.

PELLATI, F. et al. Cannabis sativa L. and Nonpsychoactive Cannabinoids: Their Chemistry and Role against Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer. **Biomolecules**, v. 8, n. 4, p. 1-22, 2018.

PEREIRA, A. C. M. et al. Co-treatment of purified annatto oil (*Bixa orellana* L.) and its granules (Chronic®) improves the blood lipid profile and bone protective effects of testosterone in the orchietomy-induced osteoporosis in Wistar rats. **Molecules**, v. 26, n. 16, p. 4720, 2021.

PEREIRA, T. et al. Exotic vegetable oils for cosmetic o/w nanoemulsions: In vivo evaluation. **Molecules**. 21, 248, 2016.

PÉREZ-SÁNCHEZ, L et al. Muscle injury and regeneration: current insights and clinical implications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 8, p. 6459, 2023. DOI: 10.3390/ijms24086459.

PIOMELLI, D; SASSO, O. Peripheral gating of pain signals by endogenous lipid mediators. **Nature Neuroscience** 2014; 17(2):164-174.

PISANTI, S, et al. Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. **Pharmacology & Therapeutics**. Volume 175, July 2017, Pages 133-150

PREETI. et al. Nanoemulsion: An Emerging Novel Technology for Improving the Bioavailability of Drugs. **Scientifica (Cairo)**. 2023 Oct 28;2023:6640103. doi: 10.1155/2023/6640103.

QURESHI, A. A. et al. Pharmacokinetics and bioavailability of annatto δ -tocotrienol in healthy fed subjects. **J. Clin. Exp. Cardiol**, v. 6, n. 10.4172, p. 2155-9880.1000411, 2015.

RIZG WY. et al. (2021). Preparation and optimization of garlic **oil**/apple cider vinegar nanoemulsion loaded with minoxidil to treat alopecia. **Pharmaceutics** 13:2150.

ROCHA-FILHO, P. A. da et al. In vitro and in vivo evaluation of nanoemulsion containing vegetable extracts. **Cosmetics, Basel**, v. 4, n. 3, art. 32, 2017. DOI: 10.3390/cosmetics4030032.

ROSSET, Isac George; ASSAF, Elisabete Moreira; PORTO, Andre Luiz Meleiro. Biocatalytic production of ethyl esters (biodiesel) by enzymatic trans-esterification from synthetic triolein. **Current Catalysis**, v. 2, n. 1, p. 53-61, 2013.

SAFRAID, G. F. et al. Perfil do consumidor de alimentos funcionais: identidade e hábitos de vida. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 25, p. e2021072, 2022.

SAITA, Y. et al. Plasma myoglobin indicates muscle damage associated with acceleration/deceleration during football. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 63, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37712927/>.

SALCEDO, K. G. Y. et al. Evaluating muscle damage biomarkers in adolescent athletes: implications for public health. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 21, n. 11, p. 1394, 2024. DOI: 10.3390/ijerph21111394.

SALES, P. F. et al. Effect of the Association of Fixed Oils from *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, *Euterpe oleracea* Martius, *Bixa orellana* Linné and Chronic SM® on Atherogenic Dyslipidemia in Wistar Rats. **Molecules**. 2023 Sep 19;28(18):6689. doi: 10.3390/molecules28186689.

SANT'ANNA, J. P. C.; PEDRINELLI, A.; HERNANDEZ, A. J.; FERNANDES, T. L. Muscle injury: pathophysiology, diagnosis and treatment. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 57, n. 1, p. 1–13, 2022.

SCHILLING S, MELZER R, MCCABE PF. *Cannabis sativa*. **Curr Biol**. 2020 Jan 6;30(1):R8-R9. doi: 10.1016/j.cub.2019.10.039. PMID: 31910378.

SHARP, M. et al (2020) Phytoplankton Supplementation Lowers Muscle Damage and Sustains Performance across Repeated Exercise Bouts in Humans and Improves Antioxidant Capacity in a Mechanistic Animal. **Nutrients** 12:1990.

SANTOS, A. M. et al. Synergistic Pain-Reducing Effects of *Bixa orellana* (Chronic® and Chronic In®) and Cannabidiol-Rich *Cannabis sativa* Extracts in Experimental Pain Models. **Pharmaceuticals (Basel)**. 2024 Dec 18;17(12):1710. doi: 10.3390/ph17121710. PMID: 39770552; PMCID: PMC11678258.

SILVA, F. C.; PEREIRA, M. M. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 1038-1047, 2005.

SILVA, F. O. C. DA .; MACEDO, D. V. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v. 13, n. 4, p. 320–328, jul. 2011.

SOUTO, E. B. et al. Microemulsions and nanoemulsions in skin drug delivery. **Bioengineering**, v. 9, n. 4, art. 158, 2022. DOI:10.3390/bioengineering9040158.

SOUZA DE JESUS, G.; FERREIRA, A. DA S.; MENDONÇA, AC. Fonoforese X Permeação Cutânea. **Fisioterapia em Movimento (Fisioterapia em Movimento)**, [S. l.] , v. 4, 2017. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/fisio/article/view/28108>. Acesso em: 5 jan. 2024.

SOUZA DA SILVA, A. et al. A Maconha nas perspectivas contemporâneas: Benefícios e Malefícios. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente** -FAEMA DOI:<http://dx.doi.org/10.31072>.ISSN: 2179-4200

SUN X. Research Progress on Cannabinoids in *Cannabis* (*Cannabis sativa* L.) in China. **Molecules**. 2023 Apr 29;28(9):3806. doi: 10.3390/molecules28093806. PMID: 37175216; PMCID: PMC10180461.

TAKEUCHI O, A, S. Receptores de reconhecimento de padrões e inflamação. **Célula**. 2010;140:805–820. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.022.

THANUKU, S.; VELISILA, D.; THATRAJU, D.; VADAGA, A. K. Nanoemulsion formulation strategies for enhanced drug delivery: review article. **Journal of Pharma Insights and Research**, v. 2024. DOI: 10.69613/3f8m9151.

TIDBALL, James G. Divergent roles of inflammation in skeletal muscle recovery from injury. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 22, n. 2, p. 1–15, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7031348>

TSOU, K. et al. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. **Neuroscience** 83, 393–411.

TIDBALL, J. G. Inflammation in skeletal muscle regeneration. **American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 320, n. 6, p. R1013–R1024, 2021. DOI: 10.1152/ajpregu.00018.2021.

TSUCHIYA, Y. et al. Effect of eicosapentaenoic acid-rich fish oil supplementation on muscle damage and inflammation after eccentric exercise. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2021.

VASCONCELOS, A, R. et al. Análise biomecânica dos efeitos da crioterapia no tratamento da lesão muscular esquelética induzida por contusão em ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 17, n. 6, p. 416-420, nov./dez. 2011.

VILAR DDE A. et al. Traditional uses, chemical constituents, and biological activities of *Bixa orellana* L.: a review. **ScientificWorldJournal**. 2014;2014:857292. doi: 10.1155/2014/857292. Epub 2014 Jun 23. PMID: 25050404; PMCID: PMC4094728.

VISHALAKSHI N. et al. Banco de dados de proteoma de plasma como recurso para pesquisa proteômica: atualização de 2014. **Nucleic Pesquisa de Ácidos**. Volume 42, Edição D1, 1 de janeiro de 2014, Páginas D959–D965.

WONG S, K. et al. Explorando o potencial do tocotrienol de *Bixa orellana* como um agente único visando a síndrome metabólica e a perda óssea. *Bone*. 2018;116:8–21

WONG S, K. et al. Os efeitos do tocotrienol de palma na síndrome metabólica e perda óssea em ratos machos induzida por dieta rica em carboidratos e gordura. *J. Funct. Alimentos*. 2018;44:246–254.

SAFRAID, G. F. et al. Perfil do consumidor de alimentos funcionais: identidade e hábitos de vida. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 25, p. e2021072, 2022.

ZHANG, X. et al. A systematic review and meta-analysis of the effect of phonophoresis on patients with knee osteoarthritis. **Scientific Reports**, v. 12, p. 16084, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-16084-8.

ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITE DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA – UNIFAP

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Amapá **APROVOU**, na data de 28 de agosto de 2018, o parecer referente ao protocolo no. **015/2018** e certifica que o Projeto de Pesquisa intitulado "**ESTUDOS FARMACOLÓGICO E TOXICOLÓGICO NÃO CLÍNICO DO EXTRATO PADRONIZADO DE *Cannabis sativa* L. (MCTM M-1661 CBD)**" coordenado por **Helison de Oliveira Carvalho**, está de acordo com os princípios de ética e bem estar animal.

Parecer do Comitê de Ética de Uso de Animais

CERTIFICATE

The Ethics Committee on Animal Use of the Amapá Federal University **APPROVED** at the meeting of 28 August 2018, the final decision about the Protocol **015/2018** and certify that the research project entitled "**NON-CLINICAL PHARMACOLOGICAL AND TOXICOLOGICAL STUDIES OF THE STANDARDIZED EXTRACT OF *CANNABIS SATIVA* L. (MCTM M-1661 CBD)**" coordinated by **Helison de Oliveira Carvalho**, is in accordance with the principles of ethics and animal welfare.

Macapá, 28 de agosto de 2018

Prof. Tit. José Carlos Tavares Carvalho
Presidente CEUA-UNIFAP
Port. No. 1733/2014