

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Identificação Química em Nível Molecular de Amostras de
Maconha por ESI-FT-ICR MS**

Iendel Rubio do Nascimento

Dissertação de Mestrado em Química

Vitória – Espírito Santo

2014

Iendel Rubio do Nascimento

**Identificação Química em Nível Molecular
de Amostras de Maconha por ESI-FT-ICR MS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química, na área de Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Wanderson Romão

VITÓRIA – ESPÍRITO SANTO

2014

Identificação Química em Nível Molecular de Amostras de Maconha por ESI-FT-ICR MS

leudel Rubio do Nascimento

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Aprovado em 14 de março de 2014 por:

Prof. Dr. Wanderson Romão
Instituto Federal do Espírito Santo
Orientador

Prof. Dr. Valdemar Lacerda Junior
Universidade Federal do Espírito Santo

Dr. Leandro Fernandes Machado
Polícia Federal - Brasília

Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória, 14 de março de 2014.

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Aos meus filhos,
Yuri Kayã Qualiotto Rubio do Nascimento e
Yohanna Mauí Qualiotto do Nascimento.
“Todo amor que houver nesta vida...”
AMO MUITO!

Agradecimentos

Agradeço a Deus, eterno pai das misericórdias, que me sustenta a cada dia. Ao seu filho amado, Jesus Cristo, por seu infinito amor e ao doce Espírito Santo que me consola dia após dias. A cada vez que o meu coração bater, a cada vez que eu respirar, a cada vez que eu sentir o vento me tocar, eu quero mais sentir a Tua presença. Em cada piscar dos meus olhos, Jesus; em cada lágrima, em cada sorriso, estarei te dizendo: Te agradeço. Te agradeço.

Aos meus pais Ieso Antonio do Nascimento e Carmen Rubio do Nascimento, por todo apoio e amor. Aos meus irmãos: Claudio, Quézia e Adriana, pelo respeito e amor. Aos meus sobrinhos Ryan, Mateus e Vitor.

Aos amigos que me apoiaram durante esta jornada: Cristiano; Maguinho, Cris, aos primos Maguinho e Dri, Fabi, Solimar, Rubão, Genilson, Fabrício, Sgt Junior, Alê, Danilo, Pr. Sérgio e família, Pra. Edma e família, família Torre Forte, Prof. Paulo, Fernando Thebaldi e Monick.

Ao meu orientador, o Prof. Dr. Wanderson Romão, por acreditar e me dar oportunidades. Você acreditou em mim, me ensinou, me corrigiu e me incentivou a seguir em frente.

Aos Professores Doutores do PPGQUI-UFES: Álvaro, Eloi, Eustáquio, Maria de Fátima, Josimar, Rafael, Sandra, Sandro, Timothy, Valdemar e Warley, pelo conhecimento adquirido.

À CAPES, pelo incentivo financeiro, e ao PPGQUI, pelo incentivo na pesquisa e apoio financeiro nas viagens à Angra e Águas de Lindóia.

À UFES, pela oportunidade de voltar ao meio acadêmico após 15 anos.

À secretária Dirce, pelo apoio desde o início, e ao Alex, da secretaria do PPGQUI.

Ao convênio UFES/PC-ES, pela parceria no projeto e, em especial, ao Dr. Joel Lyra e às peritas Bianca B. Merlo e Caline Destefani.

Aos meus colegas de mestrado e NCQP: Armando, Flávio, Eder, Dayane, Alex, Arthur, André, Cristina, Daniel, Guilherme, Vitor, Helber, Heloísa, Gabriela, Lilian, Lindamara, Maicon, Maristela, Roberta, Débora, Eldis, Thales, Leandra, Pedro e Thieres, pelo grande auxílio e, em especial, ao grupo do Laboratório de Petroleômica e Forense: Prof. Dr. Wanderson Romão, Guilherme, Thieres, Gabriela, Lindamara, Helber, Heloísa, Lilian e Vitor.

Ao Rodrigo e Suzy, e ao amigo Beneth Bernardo.

“E sabemos que todas as coisas contribuem juntamente para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são chamados segundo o seu propósito”.

Romanos 8:28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estruturas de alguns cannabinóides extraídos da planta <i>Cannabis sativa</i> L. proscritos pela ANVISA.	12
Figura 2 Tipos de folhagem de espécie do gênero <i>Cannabis</i> .	13
Figura 3 Rótulos do cigarro Grimault, feito à base de <i>Cannabis Indica</i> , vendido em farmácias no Brasil.	15
Figura 4 A- Inflorescência do sexo masculino (estaminada). B- Planta feminina (pistilos/carpelos). 1- Flor estaminada. 2- Estame (anteras e curto filamento). 3- Estames. 4- Pólenes. 5- flor com pistilo com bract. 6- flor com pistilo sem bract. 7- flor com pistilo mostrando ovário. 8- Aquênios com bract. 9- Semente sem bract. 10- Semente. 11- Semente. 12- Sementes. 13- Semente sem pericarpo (descascada).	18
Figura 5 Estame da planta masculina e pistilos da planta feminina.	19
Figura 6 Espécies com características morfológicas semelhantes à <i>Cannabis</i> .	20
Figura 7 a) Sementes e óleo de sementes de maconha. b) Semente macerada. c) Semente germinando e d) Produção de sementes.	23
Figura 8 Herbáceo tipo haste fino, oco como bambu.	25
Figura 9 Caule de <i>Cannabis</i> – Seção transversal.	26
Figura 10 Produção de cordas, calçados, carteiras e etc, a partir da fibra obtida do caule de cânhamo.	27
Figura 11 Detalhes da folha de <i>Cannabis</i> , mostrando as faces abaxial e adaxial e as nervuras.	28
Figura 12 Inflorescência feminina de um híbrido (Skunk).	29
Figura 13 Resina extraída da <i>Cannabis</i> , conhecida como haxixe, de onde se extrai um óleo com alto teor de THC.	30
Figura 14 Estrutura do isopreno (metil-but-1,3-dieno).	31
Figura 15 Estrutura do fenol comum.	33
Figura 16 Ionização do fenol e equação para calcular o valor da constante de ionização e o pKa.	34
Figura 17 Contribuintes de ressonância do íon fenóxido e fenol.	35
Figura 18 Estrutura da substância psicotrópica da <i>Cannabis sativa</i> L. Δ^9 -trans-tetrahidrocannabinol ou Δ^9 -THC. Em destaque os hidrogênios na posição trans e o carbono 9 assinalado por seta.	36
Figura 19 Esquema de estruturas semelhantes ao Δ^9 -THC, que mantém a atividade psicotrópica. Homólogos, isômeros de posição, isômeros de cadeia e estruturas diferentes.	37
Figura 20 Classes de Cannabinóides.	38
Figura 21. Esquema de descarboxilação do ácido tetrahidrocannabinólico A (THCA-A), e rearranjo de THC para CBD.	56
Figura 22 Estrutura do Cannabinóide Sintético JWH 018 e do Endocannabinóide Anandamida. O JWH018 apresenta a mesma atividade psicotrópica do Δ^9 -THC, encontrado em incensos conhecidos como K2 e Spice.	58
Figura 23 Diagrama esquemático de um espectrômetro de massas.	59
Figura 24 Esquema ilustrativo da resolução em analisadores de massas com (a) resolução unitária (b) alta resolução.	60
Figura 25 Esquema do processo de ionização por ESI.	62
Figura 26 Esquema do arranjo interno do FT-ICR MS.	64

Figura 27 Foto do CG-MS NCQP - UFES.....	66
Figura 28 Representação matricial da análise dos componentes principais.	67
Figura 29 Representação geométrica de duas componentes principais em um espaço com três variáveis (3D).	68
Figura 30 Extração com solvente de amostras de semente, folha e haxixe em microtubos (ependorfes). Vorter Mixer auxiliando na agitação para melhor extração. Fonte de eletrospray, em detalhe, nuvem de solvente acetonitrila. Aparelho de FT-ICR MS do Núcleo de Competências Químicas em Petróleo, localizado no Laboratório de Petroleômica e Química Forense, na Universidade Federal do Espírito Santo – UFES.....	73
Figura 31 a) amostra nebulizada juntamente com solvente. b) gotas com excesso de carga na superfície. c) explosão coulômbica d) entrada para o analisador. e) cela de colisão. f) transferência de íons. g) skimmer fechado, aprisionamento de íons e entrada no hexapolo. h) tempo de voo – TOF (Time-of-flight). i) cela de ICR. j) movimento ciclotrônico dos íons. k) aquisição de espectro de massas.	74
Figura 32 Em sentido horário: Amostra de haxixe (apreensão realizada na região da Grande Vitória; Extração de haxixe em éter de petróleo por método Soxhlet; Rota-evaporador para concentração do extrato e recuperação do solvente; Cromatógrafo a gás (NCQP).....	76
Figura 33 Complexo formado pelo sal Salt Fast Blue B e Cannabinóides	77
Figura 34 Um típico espectro de ESI(+)-FT-ICR MS para uma amostra de maconha dissolvida em (a) ACN, (b) Metanol/DCM e (c) metanol. Em todas as amostras foi adicionado ácido fórmico (0,1% em volume), com o intuito de protonar as moléculas, ESI (+).	80
Figura 35 Espectros de ESI(+)-FT-ICR MS para quatro amostras de maconha nomeadas de A, B, C e D. Observe a presença de uma série de sinais típicos de canabinóides para as amostras A e D, na faixa de m/z de 200 a 400, como o psicotrópico THC $[M + H]^+$: 315 em destaque na amostra D. Entretanto, foram identificadas impurezas adicionadas à matriz da planta, como cocaína ($[M + H]^+$: 304) amostra C; lidocaína ($[M + H]^+$: 235) amostra A.	81
Figura 36 ESI(+)-FT-ICR MS mostrando em destaque o sinal do íon $([M + H]^+)$: 315 Δ^9 -THC. O sinal $([M + H]^+)$: 311 refere-se aos canabinóides: Cannabinol CBN- C_5 , Cannabinodiol CBND- C_5 e Cannabifuran CBF- C_5 , ambos apresentam a mesma relação m/z e a mesma DBE, ver tabela 4.	82
Figura 37. Espectros de ESI(+)-FT-ICR MS para os íons 491 (36a), 819 (36b) e 1147(36c).	84
Figura 38 Proposta de fragmentação para o íon 491.	85
Figura 39 Espectros ESI(+)-FT-ICR MS/MS 315, 326, 329, 340, 356 e 367	85
Figura 40 Fragmentação do íon 315 com perda neutra de 56 Da (C_4H_8).....	86
Figura 41 Espectros de ESI(-)-FT-ICR MS a) folha, b) semente, c) haxixe e d) maconha. Uma expansão na região de m/z de 300-400 Da mostra os principais canabinóides detectados na forma de $[M-H]^-$ (309, 313, 327, 345, 353, 357, 389 e 399) e dímeros de $[M + N -H]^-$: 637, 653, 673, 681, 685 e 717. A fórmula mínima, m/z medido e teórico, erro de massa e valores de DBE são mostrados na tabela 5. Entre os íons detectados, pode-se destacar a presença do íon m/z $[M-H]^-$: 357 ácido tetrahidrocannabinólico..	87

Figura 42 Espectros de ESI(-)-FT-ICR MS a) maconha, b) maconha, c) haxixe, d) inflorescência feminina, e) semente, f) folha e g) caule. Expansão de m/z 300 a 400Da.....	88
Figura 43 Esquema de síntese de THCA e sua degradação a THC e CBD.....	89
Figura 44 Relação entre a intensidade de sinais $[M-H]^-$ 309, $[M-H]^-$ 313 e $[M-H]^-$ 357 de cinco amostras de maconha.....	90
Figura 45 CANNFLAVINO B. Cannabinóide identificado por ESI(-) FT-ICR MS.....	94
Figura 46 CANNFLAVINO A. Noncannabinóide fenol identificado por ESI(-)FT-ICR MS	95
Figura 47 Sinais de ácidos graxos encontrados em amostras de sementes de <i>Cannabis sativa</i> L.....	96
Figura 48 Espectros de ESI(-)-FT-ICR MS/MS para os íons de m/z (a) 309, (b) 313, (c) 327, (d) 345, (e) 353, (f) 357, (g) 389 e (h) 399.	97
Figura 49 Propostas de fragmentações para os íons $[CBN-H]^-$ 309 Da e $[THC-H]^-$ 313Da.....	97
Figura 50 Espectros de ESI(-)-FT-ICR MS/MS para os íons de m/z (a) 637, (b) 639, (c) 641, (d) 653, (e) 673, (f) 681, (g) 685 e (h) 717.	98
Figura 51 Proposta de fragmentação do íon $[THCA-C_5-H]^-$: 357.....	99
Figura 52 MS/MS do íon 313, em destaque o íon 191, o qual determina que o íon 313 é o $[THC-H]^-$	99
Figura 53 Cromatograma obtido de uma amostra de maconha. A estrutura 3 apresenta 95% de similaridade com o $\text{trans-}\Delta^9\text{-THC}$	105
Figura 54 Teste colorimétrico Salt Fast Blue B, aplicado em 10 amostras de maconha prensada, haxixe, flor, caule, folha e semente. Os números os quais identificam as amostras, são referentes aos laudos de apreensão da Polícia Técnica do Estado do Espírito Santo.	106
Figura 55. Teste colorimétrico aplicado à mesma amostra em concentrações diferentes. Verificação do limite de detecção	108
Figura 56 Scores e Loadings das duas primeiras componentes principais (PC1 vs PC2). Ambas descreveram 41 % da variância, separando as amostras em três grupos distintos, em função da concentração do $\Delta^9\text{-THC}$ (grupo A) e da quantidade de impurezas (alta = grupo B; baixa = grupo C). Observe que não existe correlação dos grupos formados com a origem de apreensão.	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Emissão de laudos emitidos no ano de 2012	6
Tabela 2 Grupos de diferentes classes de cannabinóides identificados por R ₁ , R ₂ e R ₃	39
Tabela 3. Cannabinóides isolados e identificados.	43
Tabela 4 Relação de Sensibilidade e Especificidade.....	69
Tabela 5 Informação detalhada dos principais cannabinóides detectados pelo espectro de ESI(-)-FT-ICR MS e MS/MS na forma de [M-H] ⁻ e [M + N - H] ⁻ : <i>m/z</i> medido, <i>m/z</i> teórico, fórmula mínima, número de insaturações, DBE, erro de massas (ppm) e possíveis estruturas.....	91
Tabela 6 Estruturas propostas para moléculas identificadas em amostras de maconha, haxixe, partes da planta <i>Cannabis sativa</i> L. por ESI(±)-FT-ICR MS e MS/MS e suas respectivas massas moleculares	100

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN – Acetonitrila

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APCI – Ionização Química à Pressão Atmosférica (Atmospheric Pressure Chemical Ionization)

APPI – Foto Ionização à Pressão Atmosférica (Atmospheric Pressure Photo-Ionization)

Ar-OH - Fenol

CBC – Cannabicromeno

CBCA – Ácido Cannabicromênico

CBCN – Cannabicromanono

CBCT – Cannabicitrano

CBCV – Cannabicromevarino

CBCVA – Ácido Cannabicromevarínico

CBD – Cannabidiol

CBD – C₁ – Cannabidiorcol

CBDA – Ácido Cannabidiólico

CBDM – Cannabidiol monometiléter

CBDV – Cannabidivarino

CBDVA – Ácido Cannabidivarínico

CBE – Cannabielsoíno

CBEA-A – Ácido Cannabielsóico A

CBEA-B – Ácido Cannabielsóico B

CBF – Cannabifurano

CBG – Cannabigerol

CBGA – Ácido Cannabigerólico

CBGAM – Ácido monometiléter Cannabigerólico

CBGM – Cannabigerol monometiléter

CBGV – Cannabigerovarino

CBGVA – Ácido Cannabigerovarínico

CBL – Cannabiciól

CBLA – Ácido Cannabiciólóico

CBLV – Cannabiciólvarino

CBN – Cannabinól

CBN-C₁ –Cannabiorcol

CBN-C₂ –Cannabinól-C₂

CBN-C₄ – Cannabinól-C₄

CBN-C₅ – Cannabinól- C₅

CBNA – Ácido Cannabinóico

CBND – Cannabinodiol

CBNM – Cannabinól metiléter

CBR – Cannabiripsól

CEBRID – Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas

CBV – Cannabivarino

CBVD – Cannabinodivarino

CBT – Cannabitriól

CBTV – Cannabitriólvarino

CTVE – Etóxi-Cannabitriólvarino

CI – Ionização Química (chemical ionization)

CID – Dissociação por colisão induzida (collision-induced dissociation)

CG-FID – Cromatografia Gasosa com detector de ionização de chama (Gas Chromatography – Flame Ionization Detector)

CG-MS – Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrômetro de Massas (Gas Chromatography – Mass Spectrometry)

CSI – Crime Science Investigation

DBE – Número de insaturações e anéis (Double bound equivalent)

DeC – Departamento de Criminalística

DMSO – Dimetil-sulfóxido

DOU – Diário Oficial da União

DQUI – Departamento de Química

DSM – Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

EASI – Ambient Sonic-Spray Ionization

EI – Ionização por Elétrons (electron ionization)

ES – Espírito Santo

ESI – Ionização por Eletrospray (electrospray ionization)

ESI-FT-ICR-MS – Espectrometria de Massas com Ionização por eletrospray e Ressonância Ciclotrônica de Íons por Transformada de Fourier (Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry)

FT-ICR – Ressonância ciclotrônica de íons por transformada de Fourier

GHB – Ácido Gama Hidroxibutírico

HPLC – High- Performance Liquid Chromatography

LSD – Dietilamida do Ácido Lisérgico

ICR – Ressonância Ciclotrônica de Íons (íon cyclotron resonance)

ICP-AES – Inductively Coupled Plasma- Atomic Emission Spectrometry

IITP – Instituto de Identificação e Técnica Policial

IT – Ion Trap (Aprisionamento de íon)

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry)

MALDI – MS – Ionização/dessorção a laser favorecida por matriz (Matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry)

MS – Mass Spectrometry (Espectrometria de Massas)

m/z – Relação massa-carga

OMS – Organização Mundial de Saúde

ONU – Organização das Nações Unidas

PPGQUI – Programa de Pós-Graduação em Química

pH – Potencial Hidrogeniônico

ppm – Partes por milhão

RDC – Regime Diferenciado de Contratações

RF – Radiofrequência

SLML – Serviço de Laboratório Médico Legal

SNC – Sistema Nervoso Central

SVS – MS – Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde

TOF – Tempo de vôo (Time-of-flight)

TV – Televisão

UFES – Universidade Federal do Espírito santo

UNODC – United Nations Office on Drugs and Crime

UV-VIS – Ultraviolet-Visible

Δ^8 -THC - Δ^8 – Tetrahidrocannabinol

Δ^8 -THCA – Ácido Δ^8 -Tetrahidrocannabinólico

Δ^9 -THC-C₁ – Ácido Δ^9 -Tetrahidrocannabinorcol

Δ^9 -THCA-A – Ácido Δ^9 -Tetrahidrocannabinólico A

Δ^9 -THCA-C₁ – Ácido Δ^9 -Tetrahidrocannabinorcólico

Δ^9 -THCA-C₄ – Ácido Δ^9 -Tetrahidrocannabinólico-C₄

Δ^9 -THCA-B- Ácido Δ^9 – Tetrahidrocannabinólico B

Δ^9 -THC – Δ^9 -Tetrahidrocannabinol

Δ^9 -THCVA – Ácido Δ^9 -Tetrahidrocannabivarínico

Δ^9 -THCV- Δ^9 – Tetrahidrocannabivarino

LISTA DE SÍMBOLOS

atm – Pressão atmosférica

B – Campo magnético

cm – Centímetros

Da – Dalton

DBE – Número de instaurações e anéis (Double bound equivalente)

F – Força eletromagnética

F = Frequência

F' – Força referente ao movimento circular uniforme

g – Grama

m – Massa

mDa – Mili Dalton

mg – Miligrama

mL – Mililitros

mm – Milímetros

mmol – Milimol

ms – milisegundos

m/z – relação massa-carga

μL – microlitro

ppm – parte por milhão

psi – Libra força por polegada quadrada (pound per square inch)

q – Carga

r – Raio

v – Velocidade

V – Volts

ω – Velocidade angular

ω_c – Frequência ciclotrônica

$^{\circ}\text{C}$ – graus Celsius

RESUMO

A planta *Cannabis sativa* L. é conhecida no Brasil como maconha, sendo a droga mais consumida no país, e proscrita pela Lei nº 11.343 de 23 de agosto de 2006 (chamada de “nova lei de droga”), onde todos os isômeros, sais, éteres e ésteres do Δ^9 -Tetrahidrocannabinol (THC), princípio ativo, foram proscritos. O método utilizado pela Polícia Civil do Estado do Espírito Santo para a identificação de cannabinóides é o teste colorimétrico, por meio de solução básica de Salt Fast Blue B, o qual apresenta resultados falsos negativos e falsos positivos. A técnica de espectrometria de massas de altíssima resolução e exatidão de massas (ESI(-)FT-ICR MS), permite detectar os principais cannabinóides na forma de molécula desprotonada, íon $[M-H]^-$. Alguns íons que podem ser identificados são: $[CBN - H]^-$ de m/z 309 (CBN = cannabinoil); $[THC - H]^-$ de m/z 313 (THC = tetrahidrocannabinol) e $[CBD - H]^-$ de m/z 313; $[CBC - H]^-$ de m/z 327 (CBC = cannabicromeno); $[CBEA - H]^-$ de m/z 345 (CBEA = ácido cannabielsóico); $[CBNA - H]^-$ de m/z 353 (CBNA = ácido cannabinólico); $[THCA - H]^-$ de m/z 357 (THCA = ácido tetrahidrocannabinólico); $[8\alpha, 11\text{-Bis-hydroxy-}\Delta^9\text{-THC-A} - H]^-$ de m/z 389; $[\Delta^9\text{-THCA} + C_2H_2O - H]^-$ de m/z 357; e dímeros com m/z de 637, 653, 673, 681, 685 e 717. Foram encontrados adulterantes identificados como $[M + N + H]^+$: 491; $[2M + N + H]^+$: 819 e $[3M + N + H]^+$: 1147, onde M = OTHC (328Da $C_{21}H_{28}O_3$) e N = Nicotina (162Da $C_{10}H_{14}N_2$), além de lidocaína e cocaína. Ainda foram identificados alguns noncannabinóides como Cannflavino A e B e ácidos graxos como palmítico, oleico, linolênico e gama-linolênico nos extratos de sementes de *Cannabis*. Este estudo tem o objetivo de identificar o perfil químico de amostras de maconha, apreendidas pela Polícia Civil do Estado do Espírito Santo, por ESI(\pm)-FT-ICR MS.

PALAVRAS-CHAVE: Maconha; Cannabis; Haxixe; Espectrometria de massas; THC; FT-ICR MS.

ABSTRACT

The *Cannabis sativa* L. is well known in Brazil as "maconha". This is the most consumed drug in this country, proscribed by the Law number 11.343 of 23rd August 2006 (called "new drug law"), where all isomers, salts, ethers and esters of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC), active principle, were proscribed. The method used by the Civil Police of Espírito Santo state to identify the cannabinoids is the test called "colorimetric". It is used by a basic solution of Salt Fast Blue B, which presents results false negatives and false positive. The technique of mass spectrometry of high resolution and mass accuracies, ESI(-)FT-ICR MS, allows to detect the main cannabinoids in the form of molecules deprotonated, ions [M-H]⁻. Some ions that can be identified are: [CBN-H]⁻ of m/z 309 (CBN = cannabinol); [THC - H]⁻ of m/z 313 (THC = tetrahydrocannabinol) and [CBD - H]⁻ of m/z 313; [CBC - H]⁻ of 327 (CBC = cannabichromeno); [CBEA - H]⁻ of m/z 345 (CBEA = acid cannabielsóico); [CBNA - H]⁻ of m/z 353 (CBEA = acid cannabinólico); [THCA-H]⁻ de m/z 357 (THCA = acid tetrahydrocannabinólico); [$8\alpha,11$ -Bis-hydroxy- Δ^9 -THC-A - H]⁻ de m/z 389); [Δ^9 -THCA + C₂H₂O - H]⁻ of m/z 357; and dimers with m/z 637, 653, 673, 681, 685 and 717. Identified as contaminants found: [M + H]⁺: 491; [2M + N + H]⁺: 819; [3M + N + H]⁺: 1147, where M = OTHC (328Da C₂₁H₂₈O₃) and N is nicotine (C₁₀H₁₄N₂ 162Da) beyond lidocaine and cocaine. Still some noncannabinóides were identified as: Cannflavino A and B and fatty acids such as palmitic, oleic, linoleic and gamma-linolenic acid in the extracts of cannabis seeds. This study has the purpose to identify the chemical profile from samples of *cannabis* seized by the Civil Police from Espírito Santo state, by ESI(±)-FT-ICR MS.

Keywords: Maconha; Cannabis; Haxixe; mass spectrometry, THC; FT-ICR MS

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Histórico	2
1.2 Polícia Técnico-Científica do Estado do Espírito Santo	3
1.3 Drogas de Abuso	6
1.4 Maconha	11
1.4.1 Histórico	14
1.4.2 Legislação Brasileira	16
1.4.3 – A Planta	16
1.4.3.1 – Raiz, Frutos e Sementes	22
1.4.3.2- Caule	24
1.4.3.3- Folha	27
1.4.3.4- Flor	28
1.4.3.5- Haxixe/Hashish	29
1.5 – Cannabinóides	31
1.5.1- Terpenos	31
1.5.2- Fenóis	32
1.6 Espectrometria de Massas	58
1.6.1 – Fonte de Ionização	61
1.6.1.1- Eletrospray (ESI)	61
1.6.2- Espectrometria de massas de Ressonância Ciclotrônica de Íons por Transformada de Fourier (FT-ICR MS)	62
1.7 Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas	65
1.8 Quimiometria e Estatística	67

1.9- Teste Colorimétrico	68
2. OBJETIVOS	71
2.1- Objetivos gerais.....	71
2.2- Objetivos específicos.....	71
3. METODOLOGIA	72
3.1 Amostras.....	72
3.2 Escolha do Solvente e Preparo da amostra	72
3.3 Análise das partes das plantas.....	73
3.4 ESI(±)-FT-ICR MS	73
3.5 ESI(±)FT-ICR MS/MS	75
3.6- Cromatografia Gasosas Acoplada à Espectrometria de Massas.....	75
3.7- Teste colorimétrico	76
3.8 Limite de detecção do teste colorimétrico	77
3.9 Estatística	78
3.9.1- Sensibilidade	78
3.9.2 Especificidade.....	78
3.10 Quimiometria	78
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
4.1 ESI(+)-FT-ICR MS	79
4.1.1- ESI(+)-FT-ICR MS/MS.....	83
4.2 ESI(-)-FT-ICR MS	86

4.2.1- ESI(-)-FT-ICR MS/MS.....	96
4.3- Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas.....	105
4.4- Teste Colorimétrico e Limite de detecção	106
4.5- Tratamento Quimiométrico/ PCA.....	108
5. CONCLUSÃO	110
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	112

1. INTRODUÇÃO

Análise, determinação e classificação de substâncias químicas encontradas em local de crime é responsabilidade da Química Forense, a qual é responsável pelo suporte às investigações judiciais criminais e civis. Com a utilização de diferentes técnicas para qualquer natureza criminal, esta área da Ciência Forense fornece suporte eficaz e seguro na elucidação de casos¹.

A Química Forense tem o papel de aplicar a ciência nas questões judiciais. A sociedade, em geral, vem sendo despertada para esta área devido a várias séries de TV como CSI, Dexter, Breaking Bad, Law & Order, Criminal Minds, Cold Case e, também, a notícias de ampla repercussão, como o assassinato da menina Isabella Nardoni, em 29 de março de 2008. O objetivo da Polícia Técnica (Perícia Forense) é fornecer subsídios e provas para a resolução de casos numa investigação criminal. A Perícia é capaz de atuar em várias áreas como a documentoscopia, balística, fraudes de combustíveis, crimes ambientais, homicídios, identificação de sangue em locais de crime, identificação de digitais, drogas de abuso (identificação de amostras apreendidas e exames de sangue, urina, cabelo, suor e saliva para detecção de substâncias entorpecentes), exames antidoping, fraudes em obras de arte, cédulas falsas, entre outras. Para isso, é necessário o auxílio da Química Analítica Instrumental, a qual possibilita a utilização de técnicas e equipamentos como CG-FID, HPLC, LC MS, Detector de Raio X, Espectroscopia Raman, Espectrometria de emissão com plasma indutivo (ICP-AES), Espectrometria de massas acoplada a plasma indutivo (ICP-MS), Espectrometria de massas por ressonância ciclôtrica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR MS), Espectrofotômetro de absorção atômica com forno de grafite, Infravermelho com microscópio acoplado, Espectrofotômetro de UV-VIS, etc, além de vários reagentes químicos específicos¹.

O termo “perícia” vem do latim *peritia*, que se define como experiência adquirida, conhecimento, habilidade, saber. É uma investigação oficial realizada por peritos, com intuito de esclarecer ou evidenciar fatos que provocaram litígio judicial ou interesse extrajudicial. Forense, do latim, pertence ao foro judicial. Assim, o perito forense fornece dados ao juiz com base em resultados científicos obtidos, com análises laboratoriais e uso de instrumentos científicos². A Polícia Técnico-Científica é a terceira via concomitante no combate ao crime. Ela é responsável pela pesquisa

de vestígios deixados pelos criminosos em local de delito; apoiada pela Polícia Militar que está nas ruas em confronto direto com criminosos, e pela investigação realizada pela Polícia Civil³.

Ser retratado como Sherlock Holmes, famoso personagem da ficção policial, não é o conceito ideal para um cientista forense. Os cientistas forenses não resolvem diretamente crimes. Eles analisam as evidências físicas (todos os objetos em uma cena de crime, coletados e empacotados), que serão posteriormente analisadas em um laboratório de crime. Além destes itens, podemos incluir interrogatórios, testemunhas oculares, relatórios policiais, notas e esboços do crime. No momento em que houve a necessidade de provas para a justiça criminal, nasceu a Química Forense⁴.

1.1 Histórico

Quando o homem vivia em aglomerações tribais, o crime contra a vida era encarado como um ato proscrito pelo senso comum da tribo. As provas consistiam, tão somente, em relatos de outros membros da tribo, e, o testemunho de apenas um indivíduo, e os interesses escusos envolvidos, suscitavam dúvidas quanto à veracidade dos relatos. Logo, despertou-se o interesse pela importância da prova material, de noção de corpo delito e da necessidade de exames⁵.

O primeiro caso relatado onde a Química foi utilizada para desvendar um assassinato foi em 1752, com o assassinato de Francis Blandy. A vítima havia descoberto que o seu futuro genro, o capitão William Henry Cranstoun, era casado na Escócia e, descontente, relatou à sua filha. Consequentemente, Willian pediu à sua futura esposa, Mary Blandy, que enviasse uma “poção do amor” para o seu pai, na promessa de que ele aceitasse o casamento. A poção era um sal inorgânico de arsênio. Naquela época, a filha de Francis Blandy foi condenada a morte. Nesse contexto a Química Forense atuou no estudo da prova material, encontrada na forma física de um pó usado na época como chá⁶. Nessa época o químico Joseph Black (1728-1799) já havia relatado inúmeras propriedades deste veneno, que se distinguia de outras substâncias tóxicas⁷.

Em 1815, Mathieu Orfila publicou o livro *Traité des Poisons*, onde descrevia uma classificação dos venenos mais utilizados por criminosos. Tornou-se o “pai da

toxicologia”. Embora alguns dos métodos e ferramentas surgidos nessa época tenham se tornado obsoletos, os conceitos estabelecidos consolidaram-se em base para diversas áreas da Ciência Forense, como a balística e a toxicologia. Orfila foi o primeiro a tentar utilizar um microscópio na avaliação de sangue e sêmen⁸. O teste de Marsh (técnica para detecção de arsênio) foi desenvolvido pelo químico inglês James Marsh (1794-1846) em 1836, com base em métodos já existentes na época, embora pouco eficazes. A utilização do aparelho desenvolvido por Marsh permitia a detecção de quantidades mínimas de arsênio. Esse teste foi aplicado, com sucesso, na primeira vez em que provas resultantes de análises toxicológicas foram utilizadas em um tribunal. O fato ocorreu na França, em 1840, no povoado de Tulle (Limousin), envolvendo a morte, por alegado envenenamento, do dono de uma fundição, recaindo as suspeitas sobre a sua mulher. Esta seria condenada a prisão perpétua, com base na análise da comida e do estômago do falecido, em que se revelou a presença de arsênio. As análises do caso de Marie Lafarge foram efetuadas por uma equipe de peritos chefiada pelo eminente toxicologista francês Mathieu Joseph Bonaventure Orfila (1787-1853), considerando que 70 a 180mg de arsênio é suficiente para matar um adulto^{9,9}. Em 1851, Jean Servais Stas, um professor de química de Bruxelas, Bélgica, foi o primeiro a identificar, com sucesso, venenos vegetais no tecido do corpo humano¹⁰.

Edmond Locard, professor de Medicina Forense da Universidade de Lyon, conhecido como “Sherlock Holmes da França”, estabeleceu o primeiro laboratório criminal da polícia, em 1910¹¹.

A aplicação de cromatografia gasosa, para a identificação de produtos petrolíferos (gasolina) em laboratório forense, foi realizada pela primeira vez no Canadá, em 1960. Em 1976, Zoro e Hadley realizaram a primeira espectrometria de massa para fins forenses⁹.

1.2 Polícia Técnico-Científica do Estado do Espírito Santo

Por meio da Lei nº 799, de 13 de janeiro de 1912, foi criado o Gabinete de Identificação e Estatísticas, o qual, de acordo com o artigo 4º, teria o encargo de realizar todos os serviços relacionados com a identidade pessoal e a estatística policial do Estado. O primeiro diretor do Gabinete foi Archimimo Martins de Mattos,

nomeado pelo Decreto 987, em 15 de janeiro de 1912. Em 14 de junho de 1921, o Gabinete foi instalado no posto da Polícia Central, pelo do decreto 4.404. O órgão passou a se chamar Gabinete de Identificação, Estatística e Técnica Policial em 31 de dezembro de 1928, e contava com três subseções: 1) identificação, 2) estatística criminal, policial e penitenciária e, 3) laboratório de polícia. Em 1935 o Gabinete já contava com uma estrutura de maior porte: um chefe do Gabinete, dois pesquisadores, um encarregado de Estatística, seis auxiliares técnicos, um fotógrafo, um auxiliar de fotógrafo e dois inspetores de identificação. Em 1944, por meio do Decreto-Lei nº15.321, de 29 de fevereiro do mesmo ano, passou a se chamar Gabinete de Identificação e Técnica Policial. E em 14 de setembro de 1946, de acordo com o Decreto-Lei nº 16.230, tornou-se Instituto de Identificação e Técnica Policial (IITP). Em 07 de março de 1953, através da Lei nº 719, são incluídas sete filiais nos municípios de Cachoeiro do Itapemirim, Colatina, Alegre, Mimoso do Sul, São Mateus, Conceição da Barra e Barra de São Francisco¹². Em 20 de março de 1990, a partir do Decreto 2.965-N, foi regulamentada toda a estrutura organizacional da Polícia Civil, com a criação de superintendências, departamentos e suas atribuições. Em 2004 o Laboratório de Toxicologia passou por uma modernização e, em 2006, foi criado o Laboratório de DNA e em 2009 o Laboratório de Química Legal, responsável pela análise das substâncias apreendidas em todo o Estado. Assim, a Polícia Técnico-Científica do Estado do Espírito Santo completou 100 anos em 2012, então dirigido pelo delegado de Polícia Civil, Dr. Joel Lyra^{7,13}.

O laudo pericial muitas vezes poderá ser a peça principal e fundamental para condenar ou inocentar um réu. Isto ocorre, devido ao prestígio e credibilidade da perícia oficial no âmbito do sistema de segurança pública e da Justiça criminal, tornando-se a mais frequente porta-voz da ciência e base decisória da investigação policial, do processo criminal e julgamento¹⁴.

Atualmente no Brasil existem 60 Institutos de Criminalística Legal (ICs), incluindo a Medicina Legal (IMLs), para examinar causas de morte e produzir provas criminais. No Brasil existem pouco mais de 12 mil peritos para atender a todos os Estados e 5.560 municípios, em suas 32 especialidades. Entretanto, para atender a essa demanda seria necessária a construção de cerca de 360 institutos, ou seis vezes mais, com média de um instituto para cada 15 municípios. A correlação recomendada por organismos internacionais é de um perito para cada 5 mil

habitantes, o que equivale a 38 mil peritos, aproximadamente o triplo do quadro atual⁷.

A produção de provas criminais é executada no Espírito Santo por 74 peritos criminais, em procedimentos externos e laboratoriais; 35 médicos legistas, em perícias médicas; sete peritos bioquímicos-toxicologistas em perícias laboratoriais, que integram o Departamento de Criminalística e o Departamento Médico Legal da Superintendência de Polícia Técnico-Científica da Polícia Civil¹⁵.

A Polícia Técnico-Científica do Estado do Espírito Santo está assim dividida: Seção de Balística, com cinco peritos criminais que realizam perícias em todas as armas de fogo apreendidas no Estado, com cerca de 300 perícias por mês; Seção de Documentoscopia, com quatro peritos criminais que realizam exames de diferentes naturezas (falsidade documental, ideológica e material; estelionato; pirataria; contrafações de diversas espécies); Seção de Fonética e Perícias AudioVisuais e Eletrônicas, com três peritos criminais que realizam exames de verificação de locutor, coleta de dados de telefonia móvel e verificação de edição; Laboratório de Informática Forense, com dois peritos criminais que realizam diferentes exames, tais como: pedofilia, estelionato, homicídio, pirataria, danos materiais, etc; Laboratório de Química Legal, com quatro peritos criminais que realizam testes de disparos de armas de fogo e análise de drogas brutas (LSD, cocaína, crack, maconha, ecstasy, etc); Crimes Contra a Vida e Entomologia Forense (estudo da biologia de insetos e outros artrópodes em processos criminais), que realiza cerca de 142 perícias de crime contra a vida por mês, com o auxílio de 23 peritos criminais, e atuação em quatro áreas diferentes no Estado, com a seguinte distribuição: 10 para a Grande Vitória, quatro para a Região Noroeste, quatro para a Região Norte, e cinco para a Região Sul; Acidentes de Trânsito, onde são realizadas cerca de 40 perícias por mês; Crimes Ambientais, com um perito criminal; Identificação Veicular, com um perito criminal que realiza cerca de 60 exames por mês; e Crimes Contra o Patrimônio, onde se realiza cerca de 140 exames por mês; Laboratório de Toxicologia e Imunobiologia Forense, que conta com a atuação de peritos bioquímicos toxicologistas; Laboratório de DNA Criminal, o qual apresenta um médico legista, três peritos criminais e dois investigadores; e o Departamento Médico Legal, com médicos legistas e auxiliares de perícia médico legal¹⁶.

No ano de 2012 foi emitido pelas seções do Departamento de Criminalística (DeC) e pelo Serviço de Laboratório Médico Legal (SLML) um total de 20.348 laudos periciais. A tabela 1 mostra a emissão de laudos por área de atuação. Em 2013, até o mês de outubro, o número de laudos emitidos pelo Laboratório de Química Legal ultrapassou o total de 2012, seja em número de apreensões, seja em quantidade de drogas¹⁶.

Tabela 1. Emissão de laudos emitidos no ano de 2012

ÁREA DE ATUAÇÃO DA POLÍCIA	Nº de Laudos Emitidos
Química	10.275
Toxicologia	3.540
Balística	3.069
Imunobiologia	1.076
Morte violenta	586
Crimes contra o patrimônio	543
Documentoscopia	421
Informática	286
Acidente de trânsito	154
Mídias ópticas e caça níqueis	138
Fonética	111
Contabilidade	85
Identificação veicular	64
Total	20.348

Fonte: <http://www.periciaoficial-es.com.br/2013/01/estatistica-de-emissao-de-laudos-do-ano.html>

1.3 Drogas de Abuso

A palavra droga é derivada, provavelmente, do vocábulo holandês arcaico Drogg (folha seca), e seu conceito, atualmente, é preenchido por qualquer substância não produzida pelo organismo, capaz de atuar sobre um ou mais sistemas, provocando alterações em seu funcionamento¹⁶.

As drogas são substâncias químicas naturais ou sintéticas que, após sua administração interferem no funcionamento dos organismos vivos, podendo seu

efeito atuar em um órgão-alvo, ou em um organismo de forma integral¹⁷. A Organização Mundial de Saúde – OMS – determina que toda substância ou produto administrado em organismo vivo, produz modificações em uma ou mais de uma de suas funções; diferenciando de medicamento, o qual é uma preparação com drogas de ação farmacológica benéfica, quando utilizada de acordo com as suas indicações e propriedades¹⁸.

Em medicina o termo “droga” refere-se a qualquer substância que apresente potencial de prevenir ou curar doenças, ou aumentar o bem estar físico ou mental, definida como “qualquer substância (exceto alimentos), que por sua natureza química afeta a estrutura ou as funções do organismo”. Na linguagem popular o termo se refere especificamente a drogas psicoativas, em geral de uso ilícito, seja médico ou recreativo¹⁸. Segundo Paracelso (1493 – 1541) a dose correta diferencia um tóxico/veneno de um remédio. Um dos fenômenos mais frequentes na população mundial é o crescimento do consumo abusivo de substâncias psicoativas, na busca de efeitos prazerosos¹⁹.

É definida como droga de abuso as substâncias químicas administradas sem qualquer indicação terapêutica ou orientação médica, com o objetivo de obter um efeito psicoativo recreativo, e que pode levar a dependência física ou psíquica e/ou redução de vida^{20 21}. O sistema nervoso central (SNC) é afetado pela maioria das drogas de abuso, alterando o estado de consciência, provocando modificações emocionais, alterações de pensamento, humor e comportamento. Essas substâncias são supressoras de sensações desagradáveis e desencadeadora de sensações agradáveis²². A maconha, por exemplo, é uma droga modificadora do SNC enquanto o álcool é uma droga depressora do SNC, induzindo a sensações como relaxamento, euforia, ansiedade, comprometimento das funções motoras e mentais^{18 23}. O abuso de drogas continua sendo um significativo problema de saúde pública, e de âmbito social, econômico e legal. A auto administração dessas substâncias para obterem efeitos prazerosos também esta relacionada a grandes danos para a sociedade, devido a marginalização ocasionada pelo tráfico²⁴.

As drogas de abuso são divididas em: depressoras do SNC (álcool, barbitúricos, benzodiazepínicos, opiáceos, opióides, solventes, inalantes), estimulantes do SNC (anfetaminas, ecstasy, cocaína, crack, oxi), sintéticas (fenciclidina, ketamina, GHB e derivados da piperazina), e modificadoras do SNC (LSD e *Cannabis Sativa* L.)¹⁸.

O uso continuado de drogas causa dano ao indivíduo, pois modifica, aumenta, inibe ou reforça as funções fisiológicas, psicológicas ou imunológicas do organismo de maneira transitória ou permanente²⁵. A dependência química é uma síndrome caracterizada pela perda do controle no uso de uma ou mais substâncias psicoativas. De acordo com o psiquiatra André Malbergier (2005), os agentes psicoativos (como o tetrahydrocannabinol) atuam sobre o sistema nervoso central SNC, provocando sintomas psíquicos e estimulando o consumo de tais substâncias repetidas vezes²⁶.

Em 2005 foi realizado o segundo levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas, abrangendo as 108 maiores cidades do país. Na Região Sudeste, 4.107 pessoas foram entrevistadas em 52 cidades, todas com mais de 200 mil habitantes. Dessas cidades, Cariacica, Vila Velha, Vitória e Serra foram as escolhidas no Espírito Santo. O resultado da pesquisa mostrou que 10,3% dos entrevistados já utilizaram maconha como a principal droga de abuso (para usuários com faixa etária entre 12 e 35 anos), seguido pelos benzodiazepínicos (6,6%), solventes (5,9%), estimulantes (3,8%) e cocaína (3,7%). Adicionalmente, a Região Sudeste ficou em primeiro lugar no ranking de usuários da droga, seguida das regiões Sul e Nordeste²⁷.

Atualmente o Espírito Santo vive um momento preocupante em relação ao combate ao tráfico de drogas de abuso. Em 2012, a Secretaria de Justiça do Estado registrou cerca de 14 mil prisões, com as mulheres correspondendo a 10% do total, decorrente de participação no tráfico de drogas. A cocaína e a maconha se destacam como as drogas de abuso de maior circulação no Estado¹⁶.

Apesar dos estudos em humanos (sistema endocanabinóide) terem aumentado significativamente nos últimos 15 anos, em torno das propriedades de abuso da maconha, ainda não são bem conhecidos os seus efeitos psicotrópicos responsáveis pelo desenvolvimento de uma síndrome de dependência. O entendimento sobre as mudanças provocadas no indivíduo ao longo do tempo é extremamente importante devido a várias razões: prejuízo acadêmico, diminuição da propriedade laborativa, e aumento do risco de uso de outras drogas. Existe controvérsia entre usuários e a população leiga sobre a existência de uma síndrome de dependência. O reconhecimento desta síndrome é importante para se evitar transtornos psíquicos como: depressão, ansiedade e psicopatologias da personalidade. As pesquisas comprovaram um aumento de 5,4% de dependentes

em 10 anos nos EUA (1992 a 2002), e acredita-se que este crescimento se deve ao aumento de 66% de potencial ativo (THC) na maconha, que foi de 3,01% em 1992, para 5,11% em 2002²⁸.

O DSM-IV (Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 4º Ed.) apresenta sete critérios para diagnosticar a Síndrome de Dependência de substâncias, que leva a deterioração ou sofrimento clinicamente significativo, e que se manifesta por três (ou mais) dos seguintes itens, ocorrendo a qualquer momento no mesmo período de 12 meses²⁹:

a) Tolerância - Gatley e Volkow (1998) mostraram em sua pesquisa a ocorrência da diminuição do metabolismo cerebelar em ratos, afetando a coordenação motora, a aprendizagem e a propriocepção, evidenciando mudanças neuroadaptativas após exposição prolongada a cannabinóides³⁰. A excessiva exposição dos animais a cannabinóides resultou em desenvolvimento de tolerância. Em humanos, os sinais de aumento de tolerância aparecem com doses acima de 3mg/kg/dia^{31 32}.

b) Abstinência - Atualmente não há quem tenha dúvidas da existência de abstinência da nicotina, diferente da maconha apesar de vários estudos. Em 2005 foram realizados estudos comparativos e, estes, mostraram que ambas as abstinências, de nicotina e maconha, são similares tanto em magnitude quanto no curso do tempo^{33 34}.

Alguns pesquisadores comprovaram a semelhança entre os sintomas apresentados pelos animais e pelos seres humanos, após a retirada da droga. O THC foi introduzido por vias intravenosas, intramuscular e oral em macacos; e após a interrupção da administração da substância foi possível observar sintomas como agressividade, anorexia, bruxismo, irritabilidade, mesmos sintomas apresentados em humanos durante a síndrome de abstinência³⁵. Smith, em 2001, relatou claramente a existência de síndrome de abstinência de maconha; porém, declarou a necessidade de mais estudos devido a fatores como o ambiente social, uso de outras drogas e a própria personalidade do usuário³⁶.

Um indivíduo que manteve o uso intenso e prolongado, apresenta alteração comportamental devido ao declínio da concentração de cannabinóides no sangue e tecidos. Isto é abstinência. São considerados usuários pesados ou regulares aqueles que fumam todos os dias, ou quase todos os dias, e sua estimativa de carga é calculada da seguinte forma: números de cigarros de *cannabis* fumado por dia x número de anos que fuma. Por exemplo: 1 cigarro por dia durante 5 anos, sua carga

estimada será de 5 cigarros-ano. Para o tabaco a carga tabágica é estimada por: número de cigarros fumado por dia x número de anos/20. Ex: 20 cigarros/dia x 30 anos/20= 30 anos-maço³⁷.

c) Consumo maior que o pretendido - O aumento progressivo da frequência e quantidade de droga consumida, sem que isso seja previamente programado pelo usuário, é também um critério para determinação de síndrome. Uma pesquisa realizada pela Addiction Research and Treatment Service, estudou o padrão de consumo de 229 jovens (165 meninos e 64 meninas) entre 13 e 19 anos, e comprovou que a progressão do consumo de maconha, desde a primeira vez até o uso regular, é bem mais rápida que a progressão do consumo de álcool e tabaco. Assim, 53% dos jovens afirmaram consumir maconha em maior quantidade e durante mais tempo do que o pretendido³⁴.

d) Tentativas frustradas de interrupção ou diminuição do uso – O que dificulta a interrupção do uso, do ponto de vista neurobiológico do consumo, é que naturalmente, após ser instalada a síndrome de dependência, mudanças neuroadaptativas no organismo serão desenvolvidas. Além de fatores ambientais, comportamentais, psicológicos, socioculturais e até mesmo religiosos³⁸.

Reações de ansiedade e pânico relatados por indivíduos que experimentaram a droga pela primeira vez, costumam servir de desencorajamento para prosseguir no uso. Estes são os efeitos adversos desagradáveis mais comuns de acordo com os relatos. Outros efeitos citados são: quadro de confusão, amnésia, delírios, alucinações, ansiedade, agitação e hipomania (quase sem alteração de comportamento), mas todos estes sintomas desaparecem rapidamente após a abstinência^{39 40}.

e) Tempo gasto com a droga – Os usuários acabam gastando boa parte de seu tempo empenhados em gerar recursos para adquirir a droga. Alguns acabam por optar em fazer parte do mundo do tráfico, onde acabam tendo contato com outras drogas mais pesadas e com a violência, abandonando suas famílias. Há também aquele grupo preocupado em obter efeitos maiores e mais prazerosos, onde buscam conhecimentos científicos para produzir maconha com maior percentual de THC, cultivando clandestinamente em suas casas^{41 42}.

O cultivo de Cannabis é bastante divulgado e facilmente compartilhado entre internautas. Sites especializados ensinam a fazer diversos cruzamentos entre espécies, clones, fenótipos e genótipos, produzindo maconha com alto teor de THC,

com flores de diversas cores. No site You tube é possível assistir a vários vídeos, em que centenas deles ensinam o cultivo indoor e outdoor, além de várias comunidades no Facebook onde usuários compartilham experiências.

f) A droga como prioridade – Muitos usuários abandonam atividades antes prioritárias, como a escola e a família, tornam-se indiferentes ao crescimento profissional, priorizando o ato de fumar maconha⁴⁴. Na Alemanha, 54,5% dos jovens que participaram de uma pesquisa, declararam abandonar atividades de estudo e trabalho³⁹.

g) Uso da droga a despeito dos problemas por ela causados – Os problemas físicos ou psicológicos causados ou agravados pelo uso da droga, não fizeram os usuários abandonar o vício^{39 43}.

O reconhecimento da existência de síndrome é extremamente importante, devido ao risco de transtornos psiquiátricos graves como psicoses, bipolaridade afetiva, depressão, ansiedade e psicopatologias da personalidade³⁸.

Um estudo feito no Brasil com 3.398 motoristas detectou que 4,6% testaram positivo para alguma substância ilícita. Destes, 32% para THC. Outro estudo realizado com pacientes que foram admitidos em pronto-socorro após acidentes de trânsito mostrou que era mais comum aos pacientes apresentarem THC em seu sistema do que o álcool⁴⁴.

A fumaça da maconha contém de 50% a 70% de hidrocarbonetos mais cancerígenos do que a fumaça do tabaco, é irritante para os pulmões e resulta em prevalência de bronquite, tosse e produção de expectoração. Porém, não foram encontrados indícios de câncer de pulmão ocasionado pela fumaça da maconha. Pacientes com doença cardíaca sofre com dores torácicas e o risco de um ataque cardíaco aumenta em até quatro vezes durante o uso. Sua utilização está associada a doenças mentais, como esquizofrenia e psicose. Recém nascidos tiveram redução de peso, devido ao fato de sua mães fumarem durante a gravidez⁴⁵.

1.4 Maconha

"Entrou pela mão do vício. Lenitivo das rudezas da servidão, bálsamo da cruciante saudade da terra longínqua onde ficara a liberdade, o negro trouxe consigo, ocultas nos farrapos que lhe envolviam o corpo de ébano, as sementes que frutificariam e propiciariam a continuação do vício (DIAS, 1945)"⁴⁶.

A *Cannabis* é uma planta produzida há séculos para fornecer fibras para fiação, tecelagem, papel, sementes para alimentação humana e resinas aromáticas, contendo compostos de valor recreativo e medicinal desde a descoberta da agricultura. Seu consumo é relatado há cerca de 10 mil anos, tanto para a agricultura quanto por suas propriedades alucinógenas. Cresce em zonas temperadas e quentes, exceto em florestas tropicais úmidas⁴⁷. Maconha é o nome dado às folhas e flores secas, e é preparada como mistura para fumar. Técnicas são utilizadas para melhorar as formas de drogas recreativas de *Cannabis*, resultando em muitos cannabinóides para uso médico. A biossíntese de compostos cannabinóides é exclusiva para *Cannabis*, e o estudo desta biossíntese é desenvolvido para diversas utilizações industriais e farmacêuticas⁴⁸.

Mesmo apresentando alucinações em alta dose, a maconha não apresenta tolerância cruzada com outros alucinógenos, sendo considerada uma droga modificadora do SNC, capaz de causar diferentes efeitos. Já foram identificados mais de 400 compostos naturais diferentes na planta, sendo que mais de 60 pertencem à classe dos cannabinóides^{49 50}. Além do THC, estão presentes o canabinol CBN, cannabidiol CBD, carboxilados do THC, cannabigerol CBG, cannabicromeno CBC, cannabivarino, tetrahidrocannabivarino, Δ^8 -THC, etc. Vários cannabinóides são proibidos por diversas leis nacionais e internacionais⁵¹.

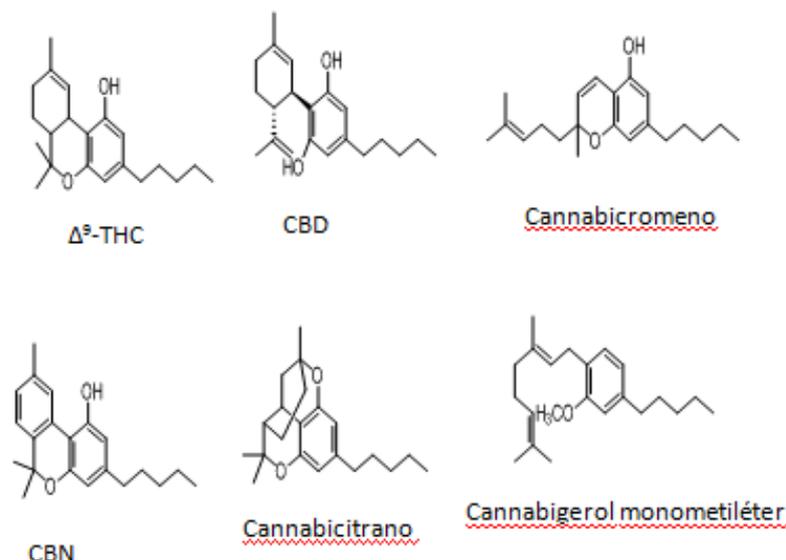


Figura 1 Estruturas de alguns cannabinóides extraídos da planta *Cannabis sativa* L. proscritos pela ANVISA.

Fonte: ELSOHLY & SLADE, 2005

Nos países avançados tecnicamente, a cada ano cresce o cultivo da *Cannabis*. Sua produção é altamente dispersa, porém, a *Cannabis* herbal é produzida para o mercado interno e exportação para países vizinhos; ou seja, o tráfico é bastante limitado. Desde os anos 70, Europa e EUA vêm trabalhando para o aumento de sua potência. EUA, Holanda e Canadá, nas últimas décadas, vêm potencializando a produção de sinsemilla (planta sem semente com alto teor de THC)⁴⁶.

No Brasil, a planta *Cannabis sativa* Linnaeus é conhecida como maconha, sendo classificada botanicamente em 1753 por Carl Von Linné. O cânhamo é original da Ásia Central, podendo ser encontrado a partir do Irã e sul da Sibéria. Os nomes comuns para cânhamo em vários países são: Áustria e Alemanha = hanf; Chile e Espanha = canamo; China = ma, Dinamarca = hanp; Finlândia = hanpu; França = Chanvre; Hungria = kender; Japão = Taima; Holanda = hennep; Polônia = Penek, Rússia e Iugoslávia = konopli =konoplja . Esta planta se encontra sobre controle internacional, apesar de registros milenares de sua utilização, tanto recreacional, médica e espiritual. Ela foi introduzida no Brasil por escravos vindos de Angola, devido a seus efeitos hipnóticos, e pelos portugueses para a fabricação de linho-cânhamo. Há três espécies de *Cannabis*: a *sativa*, a *indica* e a *ruderalis*. Diferem tanto no porte, quanto no formato das folhas e na configuração do tronco. As plantas de maconha podem ser femininas (só produzem flores femininas) ou masculinas (só produzem flores com órgãos masculinos). As plantas femininas possuem maior concentração de THC^{52 53}. A **Figura 1** mostra as três espécies de *Cannabis*.



Figura 2 Tipos de folhagem de espécie do gênero Cannabis.

Fonte: Revista Perícia Federal 2006

A maconha no Brasil é uma droga tratada como causa de distúrbios físicos, psicológicos e mentais e um mal à sociedade, o qual deve ser extirpado. Investe-se apenas no combate ao tráfico, mas tal estratégia tem se revelado incapaz de atingir

o objetivo, o qual seria o de eliminar a oferta de *Cannabis sativa* L. assim como outras plantas e substâncias proscritas⁴⁷.

1.4.1 Histórico

A *Cannabis* foi a primeira planta cultivada pela agricultura no mundo sem o propósito de servir de alimento, e sim de produzir, no início, cordas e tecidos a partir da fibra e, mais tarde, a fabricação de papel. Sua origem é descrita ao norte do Afeganistão, próximo ao Himalaia, e a partir daí se disseminou por toda a Ásia, Europa e África. Os chineses foram os inventores do papel e utilizaram fibra de cânhamo. Gutemberg (inventor da imprensa) imprimiu seus livros em papel de fibra de cânhamo, até mesmo a Constituição dos Estados Unidos da América, aprovada em 1787, foi escrita em papel de cânhamo. O segundo tipo de óleo utilizado para a iluminação pública no mundo foi o de cânhamo. Na arte, o óleo de cânhamo estava presente na maioria das tintas e as telas de pintura eram feitas de tecido de cânhamo, de forma que a palavra inglesa “Canvas”, vem da derivação do termo holandês para cânhamo. O livro Book of Drugs, escrito em 2737 A.C. pelo imperador chinês Shen Nung, é o primeiro registro escrito do uso de *Cannabis sativa* L., prescrevendo o uso para o tratamento de gota, malária, dores reumáticas e doenças femininas⁵⁵. A medicina indiana receitava cânhamo como analgésico, anticonvulsivante, antinauseante, expectorante, afrodisíaco, contra infecções gastrointestinais, dores de estômago, diarreia e como relaxante geral. As mulheres que amamentavam utilizavam o óleo de cânhamo nos mamilos contra rachaduras. Devido a essas propriedades e uso geral, em 1484 o Papa Inocêncio VIII declarou que o uso da erva era um sacrilégio, por ser utilizada pelos curandeiros, perseguidos pela Igreja Católica. Em 1492 Cristóvão Colombo leva sementes de *Cannabis* para plantar em novas terras espanholas. Em 1670 a Coroa Inglesa invadiu a Jamaica levando uma enorme quantidade de escravos africanos, com o objetivo de transformar a ilha numa grande plantação da erva, para garantir a sua produção de linho cânhamo. Com o passar do tempo a *Cannabis* passou a ser a identidade jamaicana e ficou conhecida pelo Rastafari, uma religião criada por Rastafari Makkonen (Ras = príncipe ou cabeça, tafari = paz), nome de batismo de Hailê

Selassiê I, Imperador da Etiópia, que se dizia descendente direto de Salomão com a Rainha de Sabá, se autoproclamando como a representação terrena de Jah (forma abreviada de Jeová, encontrada em Salmos 68.4)⁵⁴.

A maconha é considerada uma planta enteógena. O termo enteógeno significa o estado xamânico ou de êxtase, induzido pela ingestão de substâncias alteradoras de consciência. A manifestação interior do divino é o significado literal da palavra, e dessa mesma forma pensavam os Assírios e Sacerdotes Tauístas, sendo que até meados do século XIX, várias linhas do Candomblé utilizavam *Cannabis* em rituais. Nos Vedas (Livros sagrados do Hinduísmo), escritos há mais de 1.500 anos A.C., a *Cannabis* aparece como o alimento preferido do deus Sheeva, segundo o livro, e tomar “banguê” (como é chamada a *Cannabis*) é entrar em comunhão com Sheeva.

Em 1783 Portugal instalou no Brasil a Real Benfeitoria de Linho-Cânhamo, para atender a grande demanda mundial pela fibra. As primeiras fazendas de Linho-Cânhamo foram instaladas na região de Pernambuco, e logo em seguida no Pará, Amazonas, Maranhão, Bahia e Rio de Janeiro. Até 1905, no Brasil, a propaganda dos cigarros Grimault, feitos à base de *Cannabis Indica*, anunciava a cura para asma, catarrhos, insônia, roncos, dificuldade em respirar e até flatos. A figura 1 mostra o rótulo dos cigarros Grimault, feitos a base de *Cannabis Indica*⁴⁷.

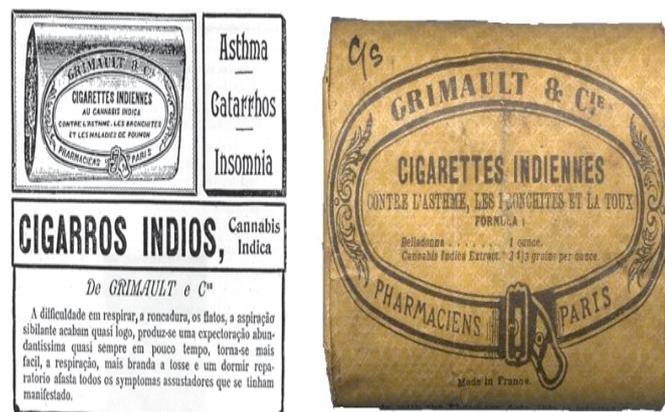


Figura 3 Rótulos do cigarro Grimault, feito à base de *Cannabis Indica*, vendido em farmácias no Brasil

Fonte: Arquivo Estado- Estadão.com.br (blogs.estadao.com.br)

A partir da II Conferência Internacional do Ópio, realizada em Genebra em 1924, a *Cannabis* passou a ser vista como algo terrível. Em 1930 começa a fase

repressiva nos seguintes Estados: Rio de Janeiro, Pernambuco, Maranhão, Piauí, Alagoas e Bahia. A Convenção Única de Entorpecentes da ONU, em 1961, condenou a maconha à condição de droga extremamente prejudicial à saúde e à coletividade, comparando-a com heroína em duas lista condenatórias.^{55 56} .

1.4.2 Legislação Brasileira

A proibição no Brasil começa em 1921 e, na década seguinte começaram as expedições visando destruir plantações, quando ocorrem as primeiras prisões e os jornais começam a noticiar como sendo um grande problema para a sociedade, embora não houvesse lei específica. A lei número 6.368, de 21 de outubro de 1976, proíbe o plantio, a cultura, a colheita, a exploração e o consumo de qualquer planta que apresente substâncias psicotrópicas. A *Cannabis sativa* L. está presente na lista E (lista de plantas proscritas que podem originar substâncias entorpecentes e/ou psicotrópicas), de acordo com a Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998 (DOU de 1/2/99), onde, fica proibida a importação, a exportação, o comércio, a manipulação e o seu uso. Ficam sob controle todas as substâncias obtidas a partir da planta, bem como os sais, isômeros, ésteres e éteres destas substâncias. O artigo 28 da Lei nº11.343, de 23 de agosto de 2006 (chamada de “nova lei de droga”, sendo vigorada no Brasil em 08 de outubro de 2006) traz as penas para quem adquirir, guardar, manter em depósito, transportar ou trazer consigo para consumo pessoal, drogas sem autorização ou em desacordo com determinação legal ou regulamentar. Esta lei descaracteriza o usuário como criminoso. A Resolução – RDC nº 21, de 17 de junho de 2010 traz a inclusão de um cannabinoide sintético conhecido como JWH 018 ou 1-naftalenil-(1-pentil-1H-indol-3-il)-metanona, o qual tem sido encontrado em incensos (K2 e Spice), uma nova forma de recreação, se tornando a mais nova droga de abuso na Europa e EUA . Esta mesma resolução traz como atualização nº 33, da Portaria 344 (citada acima), a proscricção dos isômeros e as variantes estereoquímicas da substância Tetrahidrocannabinol⁵⁷ .

1.4.3 – A Planta

O botânico sueco Carolus Linnaeus (Carl Von Linné) classificou botanicamente a planta em 1753.

NOME: *Cannabis sativa* L

TAXONOMIA:

Reino: Plantae (planta)

Subreino: Tracheobionta (planta vascular)

Subdivisão: Spermatophyta (planta com sementes)

Divisão: Magnoliophyta (planta com flores)

Classe: Magnoliopsida (Dicotiledônea)

Subclasse: Hamamelididae

Ordem: Urticales

Família: Cannabaceae (Hemp family)

Gênero: *Cannabis* L (Hemp)

Espécie: *Cannabis sativa* L. (marijuana)

Subespécies: *sativa*, *indica*, *ruderalis*^{47 58}

A planta é mais adequada para um solo bem estruturado e neutro para alcalino, e solos argilosos com boa capacidade de retenção de água, que não estão sujeitas a alagamentos. Entre as muitas tentativas de criação, os cruzamentos de *sativa* levaram ao desenvolvimento do "skunk", um híbrido com 75% *sativa* e 25% *indica*. A *Cannabis* é uma planta dioica, e as flores em plantas individuais são unissexuais de floração anual. Plantas masculinas estaminadas (estame, órgão masculino cheio de pólen) são geralmente mais altas, mas menos robusto do que as plantas femininas, as quais possuem pistilos ou carpelos^{47 56 59}.



Figura 4 A- Inflorescência do sexo masculino (estaminada). B- Planta feminina (pistilos/carpelos). 1- Flor estaminada. 2- Estame (anteras e curto filamento). 3- Estames. 4- Pólen. 5- flor com pistilo com bract. 6- flor com pistilo sem bract. 7- flor com pistilo mostrando ovário. 8- Aquênios com bract. 9- Semente sem bract. 10- Semente. 11- Semente. 12- Sementes. 13- Semente sem pericarpo (descascada).

Fonte: UNODC 2009

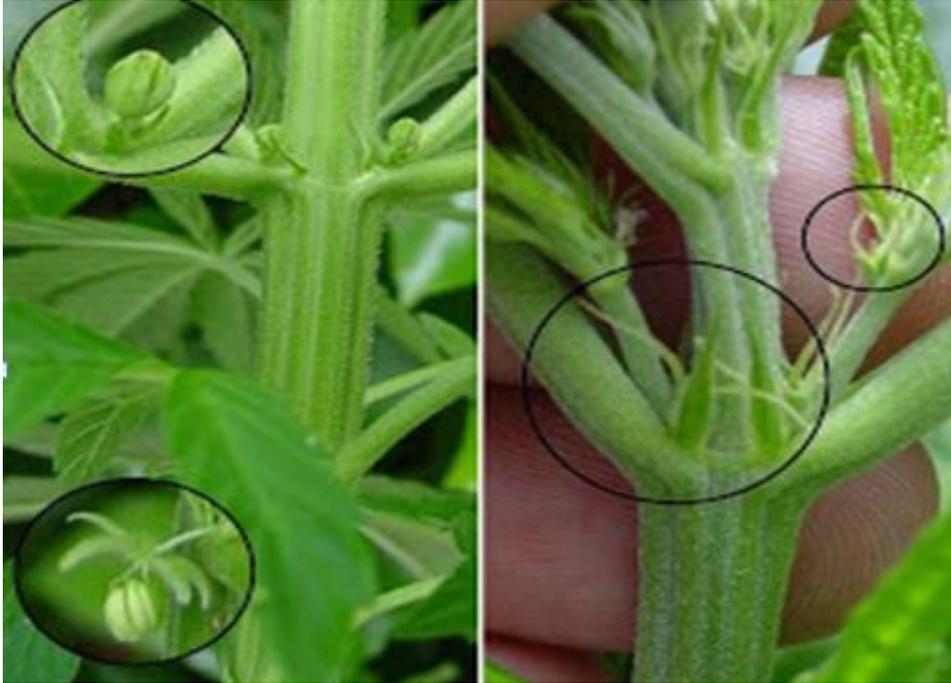


Figura 5 Estame da planta masculina e pistilos da planta feminina

Fonte: Revista Perícia Federal 2006

O limite legal máximo de THC para maconha industrial (cânhamo) é de 0,2% na Europa e 0,3% no Canadá⁴⁷ (UNODC U. N., 2009). Uma outra forma de distinguir a droga *Cannabis* da fibra *Cannabis* é a proporção entre os principais cannabinóides: THC e CBD, ambos gerados através de seus THCA (Ácido Tetrahidrocannabinólico) e CBDA (ácido tetrahidrocannabidiólico), gerados pelo CBGA (Ácido Canabigerólico) biossinteticamente, o CBN (Canabinol) é um produto de degradação do THC; ou seja, ele não ocorre naturalmente^{45 60 61}.

$$X = \frac{[\text{THC}] + [\text{CBN}]}{[\text{CBD}]} \quad (1)$$

[THC] é medida pela área do cromatograma. Quando $X > 1$, a amostra é considerada um tipo de fármaco ou droga *Cannabis* e, quando $X < 1$, *Cannabis* fibra. O THC é oxidado parcialmente a CBN após o corte e secagem do material vegetal, a soma da área do pico do THC e CBN são utilizados e divididos pela área de CBD⁴⁶. A presença de uma certa quantidade de CBN na amostra compreende que ela começou a se degradar, e não deve ser utilizada para fins de identificação. É

possível estimar a idade de uma dada amostra com base em seu teor de THC e CBN. Para fins de comparação, não é aconselhável a realização de testes em amostras com mais de três meses de apreensão, dependendo da forma de armazenamento⁴⁵.

Dependendo da parte da planta, há variação no teor de THC: de 10-12% em flores pistiladas, 1-2% em folhas, 0,1-0,3% em caules, e abaixo de 0,03% nas raízes. Algumas espécies de plantas carregam características morfológicas semelhantes à *Cannabis sativa* L. como *Hibiscus cannabinus*, *Acer palmatum*, *Urtica cannabina* e *Dizygotheca elegantissima*. A figura 6 mostra a similaridade destas espécies⁴⁶.

Pesquisa realizada em 2003 mostrou que existe a contaminação da maconha por microorganismos cosmopolitas (fungos), os quais produzem microtoxinas⁶².

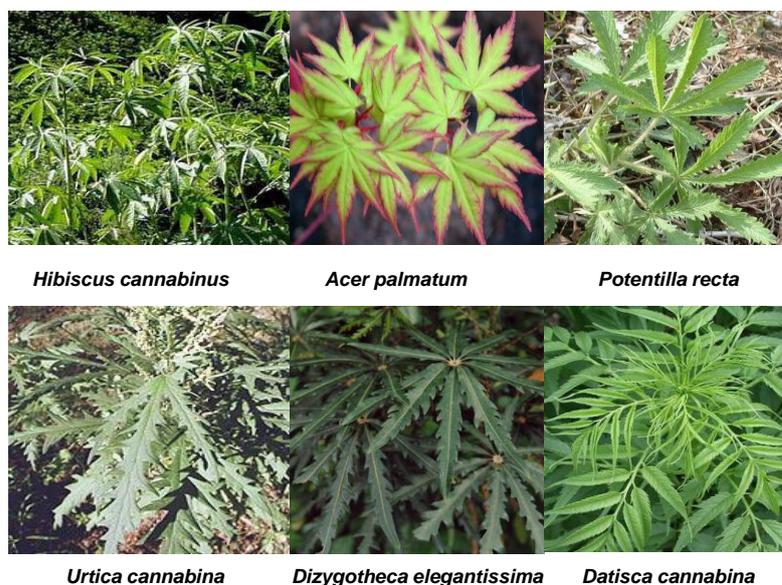


Figura 6 Espécies com características morfológicas semelhantes à *Cannabis*

Fonte: www.treesdirect.co.uk Acesso em 08 de junho de 2013

De 1980 a 1997, mais de 7 mil toneladas de produtos de *Cannabis* (óleo de *Cannabis*, haxixe e óleo de haxixe), foram apreendidas no Reino Unido, havendo um aumento de menos de 1,5%, em 1980, para 4,5% em 1997, no teor de THC. Atualmente, os maiores níveis encontrados foram de 29,9% em maconha, 33,1% em *Cannabis* sinsemilla, 52,9% em haxixe e 47,0% em óleo de haxixe. Na Suíça, dois estudos foram realizados e mostram a evolução das espécies de *Cannabis*. No período de 1981 a 1985 o teor médio de THC encontrado na maconha era de 1,4%,

e o maior teor encontrado foi de 4,8%⁶³. O segundo estudo, realizado entre 2002 a 2003, encontraram concentrações médias de THC de 12,9%, e o teor máximo atingiu 28,4%⁶⁴. Razões para este enorme aumento de potência incluem progressos na ração, a tendência de cultivar em recintos fechados, o acesso mundial a informações sobre cultivo e troca de sementes através da Internet⁶⁵.

Atualmente, existem cinco diferentes denominações para a preparação da planta:

- a)** Baseado, beck, maconha, liamba, marijuana: utilizam-se várias partes da planta que, após seca, é picada e fumada em cigarros artesanais. A concentração de THC pode variar na ordem de 0,5 a 5 wt %;
- b)** Haxixe ou charas: resina extraída das inflorescências da planta, friccionando a planta com as mãos ou extração com água fervente. O Haxixe é uma pasta semissólida de coloração marrom escura, sendo consumida via cachimbo ou misturada ao baseado. A concentração de THC varia na ordem de 10 a 20 wt %.
- c)** Óleo de Haxixe: óleo negro viscoso com odor característico, extraído da planta ou de sua resina; ele é um concentrado de THC, 10 a 30 wt %.
- d)** Skunk: um híbrido do cruzamento entre a *Cannabis sativa* x *Cannabis indica* cultivada em condições ambientais ideais (ex: hidroponia), com o objetivo de aumentar a concentração de THC no vegetal; ela é também conhecida como maconha de laboratório ou supermaconha, com teor de THC em torno de 17,5 wt %.
- e)** Sinsemilla (sem semente): planta feminina com alto teor de THC, onde as plantas masculinas são retiradas da plantação antes da liberação de seus polens, evitando a fertilização da planta feminina e a formação dos frutos. A concentração de THC poderá atingir até 24 wt %.¹⁸

Houve um aumento no número de usuários de 2009 para 2013, que passou a ser 3,9% da população mundial, ou cerca de 180,6 milhões de pessoas com idade entre 15 e 64 anos. O cultivo tem aumentado na América do Sul⁴⁵. A migração do cultivo de maconha para o leste e noroeste do Paraguai aumentou o fluxo de entrada da droga pelo Paraná, onde as apreensões tiveram um aumento de 52% até julho de 2013, com quase 21 toneladas somente em Foz do Iguaçu. O Paraguai produz cerca de 10 mil hectares por ano de maconha em quatro safras, sendo que 80% da droga é consumida por brasileiros. Um hectare produz 8 mil pés de

Cannabis, correspondendo a três toneladas por hectare. O quilo, na saída da plantação, custa cerca de US\$ 10. Ou seja, um hectare rende US\$ 30 mil. Uma renda de mais de US\$ 250 milhões para o crime organizado apenas na primeira fase de negociação. Até o consumidor final isso se multiplica várias e várias vezes, e o lucro ultrapassa a bilhões de dólares. No ano de 2012 foram apreendidas 111 toneladas de maconha, somente a originária do Paraguai, pelas polícias do Paraná e Mato Grosso do Sul⁶⁶.

Em dezembro de 2013, o Uruguai se tornou o primeiro país em que o Estado assumiu o controle do plantio, da distribuição e da venda de maconha. O presidente José Pepe Mujica acredita que a legalização deve diminuir a violência relacionada ao tráfico^{67 68}. O valor estipulado pelo governo uruguaio é de 1 dólar por grama e cada consumidor poderá portar até 40g da droga⁶⁹. O Paraguai estuda a questão da liberação da maconha com o controle estatal, seguindo o exemplo do Uruguai, e candidatos a presidência do Chile anunciam ser favoráveis à legalização⁶⁹.

Em janeiro de 2014, o Colorado – EUA se torna o primeiro Estado americano a permitir a venda de maconha. Rachel Gillette, da sede estadual da Organização Nacional dos EUA para a reforma das Leis da Maconha, afirmou: “O Estado descobriu uma estratégia para sair da fracassada guerra contra as drogas, e espero que outros Estados sigam pelo nosso caminho”. Segundo The Denver Post, os primeiros US\$ 40 milhões arrecadados com os impostos da venda da maconha serão destinados à construção de escolas⁷⁰.

1.4.3.1 – Raiz, Frutos e Sementes

A raiz é longa, perpendicular, lenhosa e branca⁷¹.

Um fruto pequeno, monospermico (uma semente), pericarpo reduzido, casca dura e lisa, e semente presa ao pericarpo através de um pequeno pedicelo é chamado de aquênio, são ovalados e levemente achatados, apresentam de 3,5 a 6,0mm de comprimento, e 2,0 a 4,0mm de largura, e cor variável (marrom, bege, verde, cinza e creme). Apresenta epicarpo (parte mais externa do pericarpo) duro e liso, e finamente reticulado, mosqueado com malhas em coloração mais clara, geralmente creme ou bege, dividido em dois hemisférios por uma faixa estreita da mesma cor da malha, circundando o maior perímetro. O aquênio é envolto por cálice

persistente, gamossépulo membranáceo de aspecto rugoso, com formação tubular afinado no topo e dilatado na base. Os frutos de *Cannabis sativa* L. são geralmente referidos como sementes de forma equivocada⁶¹.

A semente de cânhamo faz parte da dieta humana há cerca de 5.000 anos, juntamente com o óleo extraído dela, principalmente na China e demais países da Ásia, onde ocorre grande produção. Atualmente as sementes de cânhamo permanecem como alimentos tradicionais. No entanto, na maior parte do mundo elas têm sido usadas como alimentos para aves e peixes. Na Europa e EUA, as sementes como alimento foram redescobertas em 1990⁷².

Estudos revelam que a semente de cânhamo, juntamente com a farinha da semente, apresentam 30% de óleo e cerca de 25% de proteína (edestina e albumina são as principais), juntamente com fibras alimentares, vitaminas e minerais em quantidade bem considerável, além de uma quantidade nutricional significativa de todos os aminoácidos essenciais, em especial, o aminoácido arginina, o qual é encontrado em nível elevado⁷².



Figura 7 a) Sementes e óleo de sementes de maconha. b) Semente macerada. c) Semente germinando e d) Produção de sementes.

Fonte: www.eiha.org (European Industrial Hemp Association). Acesso em 22/06/2013.

Na China a semente de cânhamo é vendida assada como lanche, por ambulantes. O óleo “black” é utilizado na Rússia como substituto da manteiga e margarinas hidrogenadas. Sua cor escura natural deve-se à clorofila presente no interior da semente madura, que pode sofrer auto-oxidação do óleo quando exposto à luz⁷³.

O óleo de semente é valorizado principalmente por suas propriedades nutricionais, compostas de 20% a 25% de proteínas, 20% a 30% de carboidratos, 10% a 15% de fibras, e uma variedade de minerais. É uma fonte completa de todos os aminoácidos e ácidos gordos essenciais^{74 74}.

Nas estruturas glandulares da planta ocorrem a produção e o armazenamento de CBD e THC. Nas fibras, são encontradas concentrações maiores de CBD e também em espécies oleaginosas de cânhamo (maconha com teor de THC menor que 0,3%)⁷². A contaminação do óleo de semente com CBD é devida à prensagem e ao processamento. O óleo apresenta propriedades anticonvulsivantes, antiepiléticas e antimicrobianas, devido à presença de CBD,^{75 76} além de propriedades farmacológicas como anti-inflamatórios, antialérgicos e citoprotectores⁷⁷.

1.4.3.2- Caule

O caule da *Cannabis* é herbáceo, tipo haste, fino, ereto, com ramificação monopodial; ou seja, ramificação caulinar em que há um eixo principal com crescimento durante toda a vida da planta, de onde partem ramificações laterais menores; sua coloração vai desde o verde-claro a verde-escuro, podendo apresentar pigmentação bordô em algumas regiões, devido à presença de antocianina (pigmento localizado principalmente nas partes superficiais da planta, que confere a coloração vermelha, violeta e azul a flores, frutos, caules e raízes); anguloso, com estrias longitudinais bem evidentes; áspero, deixando odor característico nos dedos; fistuloso (caule com entre nós ocos, como o bambu) e fibroso, com camada exterior rígida⁶¹. Podem variar de 0,2-6 m. No entanto, a maioria das plantas atinge alturas de 1-3 m. A extensão de ramificação, como a altura da planta, depende de fatores ambientais e hereditários, bem como do método de cultivo⁴⁶.



Figura 8 Herbáceo tipo haste fino, oco como bambu

FONTES: REVISTA PERÍCIA FEDERAL. SOUZA, Daniele; MICHELIN, Kátia & HOLLER, Marcelo G. (2006).

Dependem tanto do ambiente e fatores hereditários, quanto do método de cultivo, do grau de ramificação, da altura das plantas. Os ramos laterais variam de frente para alternar a qualquer parte do tronco principal. Os talos (pecíolos) variam de 2-7 cm de comprimento, com um sulco estreito ao longo do lado superior⁴⁵. A disposição das folhas no eixo caulinar (filotaxia) é variável de oposta cruzada à alterna helicoidal. Na oposta cruzada saem duas folhas do mesmo nó caulinar em sentidos opostos; Na alterna coloidal parte apenas uma única folha de cada nó caulinar⁶¹.

Caule de cânhamo foi encontrado em túmulos da era de 8000 A.C na China. A cultura de cânhamo prefere solos argilosos com pH acima de 6,0, preferencialmente 7,0 – 7,5. A produção de cânhamo é semelhante ao milho em suas necessidades especiais, e a falta de nitrogênio pode acarretar numa perda de massa de fibras⁷⁸. A **figura 9** abaixo mostra o corte do caule de cânhamo.

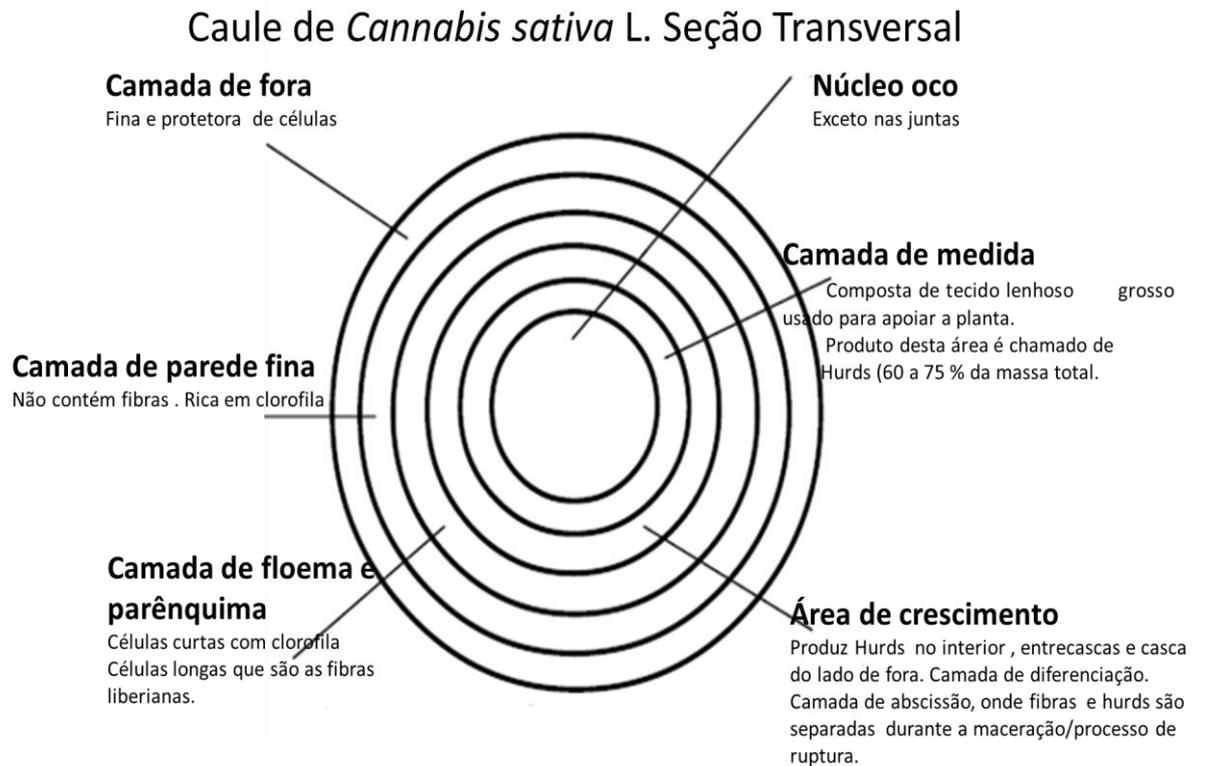


Figura 9 Caule de *Cannabis* – Seção transversal

Fonte: HOLLEBONE 1999 Adaptada

A fibra está pronta para a colheita no momento em que ocorre a produção de pólen e sementes. Se passar este período, a fibra formada no caule de cânhamo se torna excessivamente grossa. A planta é sensível à luz e produz uma cultura alta, rica em fibras, e suas hastes não podem ser cortadas ou divididas demais durante o processo de colheita^{79 79}. A **figura 10** mostra acessórios fabricados a partir da fibra de cânhamo.



Figura 10 Produção de cordas, calçados, carteiras e etc, a partir da fibra obtida do caule de cânhamo.

Fonte: www.google.com.br/search?q=tenis+de+cannabis&source=lnms&tbm=. Acesso em 20 de abril de 2013

1.4.3.3- Folha

A folha de *Cannabis* é simples, longa e peciolada (contém pecíolo, um eixo de sustentação do limbo que o conecta ao caule); palmatissectada (folha com limbo recortado em distintos segmentos, os quais se unem através de suas nervuras principais) com segmentos ímpares; lanceolada (formato foliar cuja relação comprimento x largura é de 3:1 ou mais e seu ápice é agudo) com ápice acuminado (alongado e pontudo) e base atenuada e cuneada, bordas serreadas de tamanho variável, podendo atingir mais de 15cm; apresenta consistência membranácea (lâmina foliar delgada e maleável, com consistência semelhante a uma membrana) a papirácea (lâmina foliar delgada e maleável, com consistência semelhante ao papel), levemente ásperas, podendo deixar odor característicos nos dedos. É discolor com face adaxial (face superior do limbo foliar) verde-escuro e face abaxial (face inferior do limbo foliar) verde-claro, apresenta palminérveas (nervação foliar em que o limbo possui 3 ou mais nervuras principais que partem radialmente do mesmo ponto na base do limbo) com nervuras secundárias partindo obliquamente das nervuras principais e terminando na extremidade dos “dentes” das margens serreadas, estípulas (modificações foliares, geralmente laminares localizadas na base da folha e que protegem a gema caulinar) persistentes na base do pecíolo^{45,61}.

A **figura 11** mostra os detalhes da folha de *Cannabis*.

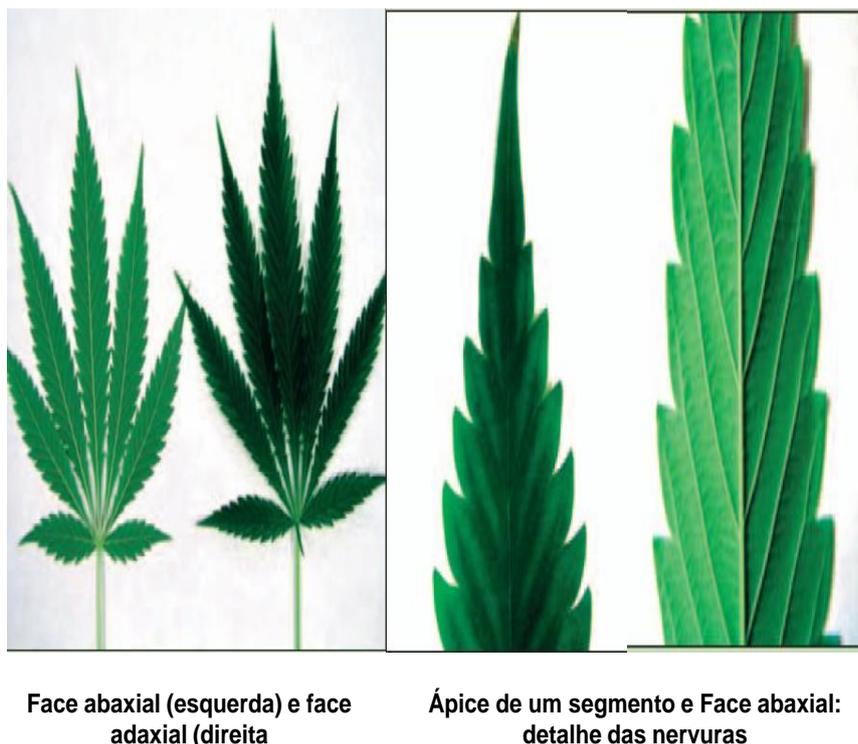


Figura 11 Detalhes da folha de *Cannabis*, mostrando as faces abaxial e adaxial e as nervuras

Fonte: REVISTA PERÍCIA FEDERAL. SOUZA, Daniele; MICHELIN, Kátia & HOLLER, Marcelo G. (2006).

1.4.3.4- Flor

As inflorescências que aparecem agrupadas em espigas e pequenas, são as flores femininas, formadas de um ovário envolvido por um perigônio cupiliforme e encimado por dois longos estiletes filiformes, articulados na base e providos de papilas estigmáticas. Sua polinização é realizada através do vento. As flores masculinas são pequenas; porém, apresentam cinco sépalas esverdeadas e cinco estames (inflorescência masculina), que liberam o pólen ao serem abertas, ver **figura 4 e 5** ^{46 71 80}. A **figura 12** mostra uma flor de um híbrido produzido em laboratório (Skunk).



Figura 12 Inflorescência feminina de um híbrido (Skunk)

Fonte: <http://ispot420.blogspot.com.br/2011/11/fotos-da-flor-da-maconha-em-macro.html>. Acesso em 13 de junho de 2013

1.4.3.5- Haxixe/Hashish

O haxixe é uma resina extraída principalmente dos pêlos das flores da planta *Cannabis sativa* e compactadas em blocos (**figura 13**), produzida em cerca de 65 países, sendo a maior produção no Norte da África (Marrocos, maior produtor) e nos países do Sudeste da Ásia Ocidental, particularmente no Afeganistão e Paquistão. O segundo maior produtor mundial de resina de *Cannabis* é o Afeganistão, onde cultivam a planta. O Líbano, durante muito tempo, foi o maior fornecedor de resina haxixe. Devido aos esforços do governo para a erradicação continuada, a comercialização foi quase extinta. Em 2006 o continente americano representava 55% da produção mundial de *Cannabis* herbácea, seguido da África, com 22% ^{81 82}

⁸³.

O maior mercado para a resina de *Cannabis* (haxixe) é a Europa, e o principal fornecedor é Marrocos, o local conhecido de maior área de cultivo de *Cannabis*. A maior parte da resina de *Cannabis* apreendida na Europa continua a ser oriunda de Marrocos, embora a sua importância esteja em declínio. Este fato é descrito pela maioria dos países da União Européia, devido ao aumento do cultivo de cannabis em ambientes fechados (indoor), o que mostra a preferência crescente pela maconha ao invés da resina haxixe. Apenas as espécies *C. sativa* e *C. indica* produzem alto índice de componentes psicoativos. A *Cannabis indica* é empregada na produção de haxixe no Oriente Médio e Índia, onde é amplamente encontrada. O

termo haxixe é derivado da palavra árabe hashshashin (de onde possivelmente se derivou o termo assassino), nome dado a um secto de militantes islâmicos sanguinários e ávidos consumidores de haxixe⁸⁴.

Amostras de haxixe oriundas de Marrocos, Líbano e Índia apresentaram uma diminuição do teor de THC na escuridão, em comparação com as amostras oriundas do Irã, Paquistão e Afeganistão. Porém, o teor de CBD diminui mais rapidamente em resinas do Irã e Marrocos. Durante o dia, observou-se que o teor de THC diminui mais rapidamente nas amostras de Marrocos e Índia. Os processos mais importantes envolvidos nas mudanças observadas são a oxidação e a descarboxilação. O comportamento para o envelhecimento da amostra é um estudo que pode contribuir para determinadas aplicações forenses^{63 85 85}.



Figura 13 Resina extraída da Cannabis, conhecida como haxixe, de onde se extrai um óleo com alto teor de THC.

Fonte: <http://maryjuana.com.br/tag/haxixe/>. Acesso em 13 de junho de 2013.

1.5 – Cannabinóides

1.5.1- Terpenos

Pertencentes a uma subdivisão de classe dos prenol-lipídios, juntamente com as prenolquinonas e esteróis, os terpenos (isoprenóides, terpenóides) representam o grupo mais difundido de produtos naturais.

1. Os terpenos modificados (grupos metila rearranjados ou removidos, ou átomos de oxigênio adicionados) são chamados de terpenóides. Vários autores usam o termo terpenos para incluir os terpenóides

2. A descrição de terpenos como hidrocarbonetos de fórmula geral C_5H_{10} , veio do estudo com terebintina. Estes terpenos são facilmente encontrados em óleos essenciais de plantas e são responsáveis por sua fragrância. Desempenham papéis vitais na fisiologia das plantas e funções importantes nas membranas celulares. Também pode ser definido como um grupo de moléculas, cuja estrutura esta baseada em unidades isoprênicas (isopreno = metil-but-1,3-dieno)⁸⁶ **figura 14**.

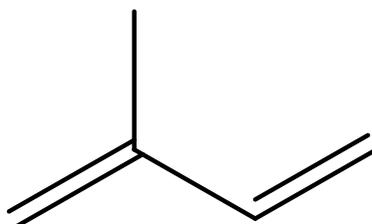


Figura 14 Estrutura do isopreno (metil-but-1,3-dieno)

Os monoterpenos (duas unidades isoprênicas) e os sesquiterpenos (três unidades isoprênicas), são os principais componentes dos óleos essenciais. diterpenos (quatro unidades), sesterpenos (cinco unidades), triterpenos (seis unidades), carotenóides (oito unidades) encontrados em bálsamos, resinas, e ceras. A borracha apresenta mais de 100 unidades isoprênicas. Além disso, unidades isoprênicas são encontradas em estruturas de várias moléculas como alcalóides indólicos, quinonas (vitamina K, E), Vitamina A, a partir do β -caroteno, alcoóis (terpenóis ou poliprenóis) e fenóis (terpenofenóis).^{87 87}

Os terpenos foram encontrados nas partes aéreas da planta (folhas e flores), e são responsáveis pelo aroma da planta. Já foram identificados mais de 120 diferentes terpenos, agindo psicotropicamente na perda de memória temporária¹⁹. Os terpenos são hidrocarbonetos, mas frequentemente aparecem em moléculas chamadas terpenóides, que correspondem a um ou mais grupos funcionais como hidroxila, carbonila e outros. As unidades de isopreno podem se ligar em série ou alternadas em oposição⁸⁸.

1.5.2- Fenóis

O grupo químico fenol é identificado com uma hidroxila (OH) ligada ao anel benzênico, representado por Ar-OH. Assim como os alcoóis e éteres, os fenóis apresentam um oxigênio com dois pares de elétrons não ligantes, os quais podem funcionar como base de Lewis (**Ver figura 15**). Porém, a ligação OH é fortemente polarizada e confere ao H um caráter ácido, gerando próton (H⁺) facilmente. A base conjugada fenóxido é estabilizada por estrutura de ressonância. Por isso o fenol é mais ácido que o ciclohexanol, embora bem mais fraco que o ácido acético (que apresenta grupo carboxila, o qual fornece estrutura de ressonância carbonila-oxigênio, gerando H⁺ mais facilmente). Estas ligações hidrogênio intermoleculares do grupo OH presente na molécula, fazem com que os fenóis apresentem pontos de ebulição mais elevados que os hidrocarbonetos, com o mesmo ou peso molecular próximo. O fenol comum (sólido à temperatura ambiente) apresenta ponto de fusão e ebulição 40,5 e 182°C, respectivamente, é pouco solúvel em água e bastante solúvel em álcool e éter, enquanto o tolueno (C₇H₈) apresenta ponto de ebulição igual a 110,6°C⁸⁸.

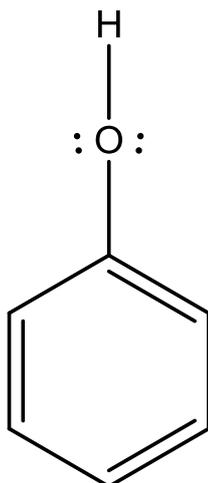
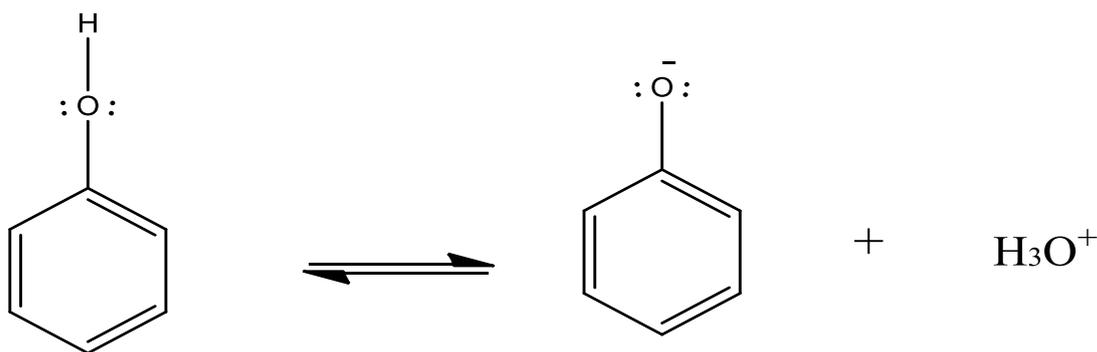


Figura 15 Estrutura do fenol comum

Segundo a teoria de Svent August Arrhenius (1887), ácido é uma substância que, ao entrar em contato com água irá gerar íons hidroxônio (H_3O^+) ou simplesmente representado por H^+ (próton). Pela teoria do dinamarquês Johannes Nicolaus Bronsted e do inglês Thomas Martin Lowry, em 1923, todo ácido irá ceder um próton (H^+). Uma reação do tipo ácido-base consiste, claramente, em transferência de um próton do ácido para a base. Esta transferência faz com que o ácido se transforme em uma base conjugada, pois a partir de agora ele poderá receber um próton. Os ácidos fortes apresentam facilidade em fornecer íons H^+ ; logo, o equilíbrio estará deslocado para a direita, para a formação de íons H_3O^+ . Quanto maior o valor de K_a , mais forte será o ácido. **(Ver figura 16)**. Quando imaginamos a composição de uma solução de um ácido fraco em água, consideramos uma solução que contém:

As moléculas ou os íons do ácido e uma pequena concentração de suas bases conjugadas. 2 Uma pequena concentração de íons H_3O^+ formadas pela transferência de prótons para as moléculas de água. 3 Concentração bastante baixa de íons OH^- , que mantém o equilíbrio de autoprotólise^{89 90}. O K_a do fenol é igual a $1,3 \times 10^{-10}$ e o $P_k a$ igual a 9,89.



$$K_a = \frac{a(\text{H}_3\text{O}^+) \cdot a(\text{ArO}^-)}{a(\text{ArOH}) \cdot a(\text{H}_2\text{O})}$$

$$\text{p}K_a = -\log K_a$$

$$K_a = 1,3 \times 10^{-10}$$

$$\text{p}K_a = 9,89$$

Figura 16 Ionização do fenol e equação para calcular o valor da constante de ionização e o pKa.

O fenol é estruturalmente semelhante ao álcool; porém, sua acidez é bem diferente. Enquanto a maioria dos alcoóis apresentam pKa da ordem de 18, os fenóis apresentam pKa abaixo de 11. Ele é considerado um ácido fraco diante de um ácido carboxílico, como o ácido acético (pKa = 4,76)⁹¹.

Inúmeros compostos orgânicos como cetonas, alcoóis e ésteres, podem ceder próton a bases muito fortes. Portanto, podem ser considerados ácidos muito fracos. Os ácidos orgânicos são fracos; porém, alguns são mais fracos que outros, por isso é importante medir sua acidez para nível de comparação e explicar e prever resultados experimentais de reações. Estes ácidos são mais fracos que a água; logo, não há possibilidade de se medir, com precisão, em solução aquosa. É preciso usar solventes não ácidos como o DMSO (dimetil-sulfóxido). Ácidos mais fortes como ácidos carboxílicos e fenóis podem ser medidos em solução aquosa com precisão.⁹¹ O anel benzênico do fenol age como um grupo atrator de elétrons, deixando a ligação O-H com menor força, liberando próton com mais facilidade. Este efeito ocorre devido ao carbono, que suporta a hidroxila, ser hibridizado sp². Estes são mais eletronegativos que os carbonos sp³, e por isso o fenol é mais ácido que o ciclohexanol.^{90 91}

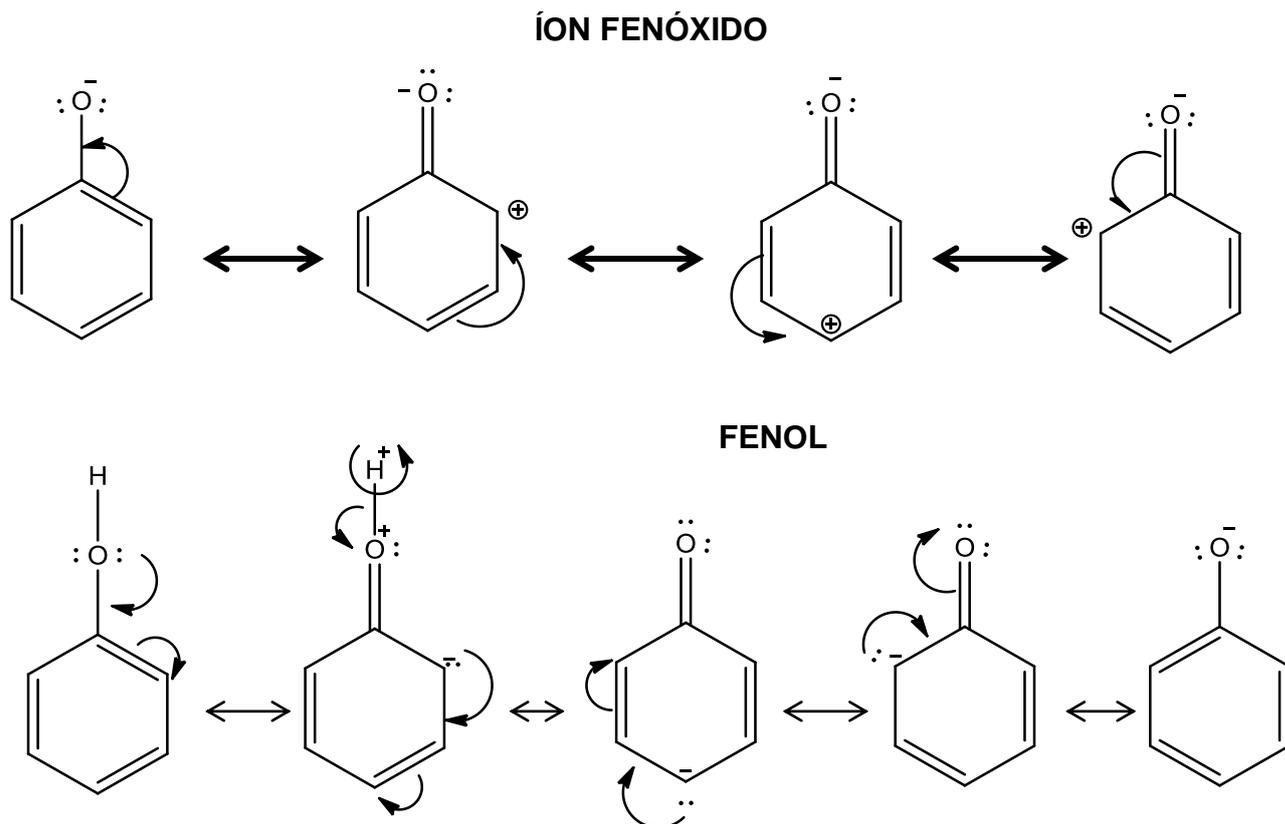


Figura 17 Contribuintes de ressonância do íon fenóxido e fenol

As estruturas de ressonância para o íon fenóxido (base conjugada) (**figura 17**) não envolve a separação de cargas. Estas estruturas estabilizam o íon fenóxido mais do que as estruturas estabilizam o fenol (**figura 17**). A maior estabilização do íon fenóxido (base conjugada) em relação ao fenol (ácido), aumenta a acidez.⁹⁰

Grupos retiradores de elétrons ligados ao anel benzênico do fenol ($pK_a = 9,89$), aumentam a acidez. Grupos doadores de elétrons diminuem a acidez, como o caso do metilfenol, que apresenta pK_a igual a $10,17$.⁹¹

1.5.3- Terpenofenólicos

Os canabinóides são compostos terpenofenólicos, quimicamente relacionados com os compostos terpenóides, em que o seu aroma pode ser uma característica geográfica da planta⁸⁷. A **figura 18** apresenta a fórmula estrutural da substância psicotrópica presente na *Cannabis sativa* L.

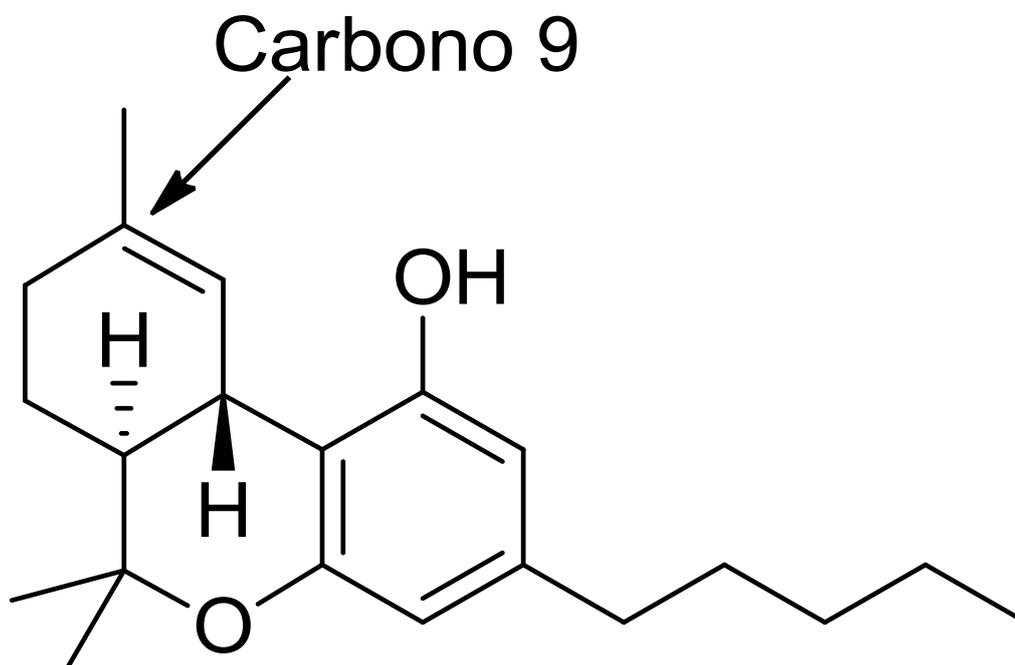


Figura 18 Estrutura da substância psicotrópica da *Cannabis sativa* L. Δ^9 -trans-tetrahydrocannabinol ou Δ^9 -THC. Em destaque os hidrogênios na posição trans e o carbono 9 assinalado por seta.

O THC (6,6,9-trimetil-3-pentil-6a, 7, 10,10a-tetrahidrobenzo[c]cromen-1-ol) de CAS 5957-75-5, também conhecido tetrahydrocannabinol é a principal substância psicotrópica encontrada na maconha. Apresenta em sua estrutura o grupo fenol e sua fórmula molecular é $C_{21}H_{30}O_2$. O termo cannabinóides foi atribuído ao grupo de compostos com 21 átomos de carbono presentes na *Cannabis sativa* L., além dos respectivos ácidos carboxílicos, análogos e possíveis produtos de transformação. Os compostos cannabinóides podem ser classificados como terpenofenóis, e não foram isolados de nenhuma outra espécie vegetal ou animal⁹¹.

Pesquisas revelaram que alterações na cadeia lateral, substituintes no carbono 9, reações de esterificação, mudança de posição da ligação dupla (C9 – C8), não alteram a psicoatividade, e é mantida a atividade. É possível verificar várias estruturas diferentes, derivadas do THC, **ver figura 19**. Nos isômeros que contém a

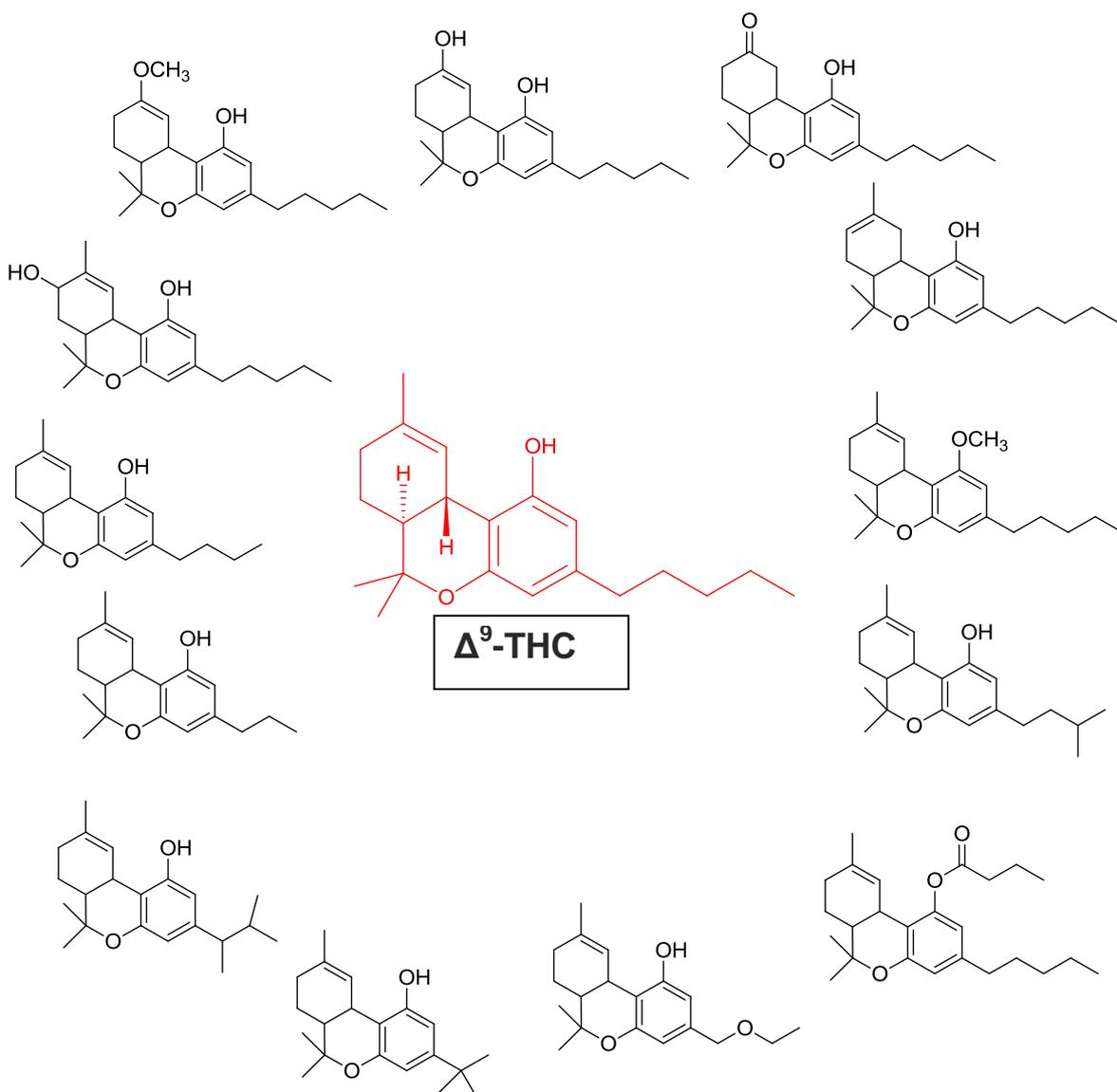


Figura 19 Esquema de estruturas semelhantes ao Δ^9 -THC, que mantém a atividade psicotrópica. Homólogos, isômeros de posição, isômeros de cadeia e estruturas diferentes

dupla ligação no anel A, a posição desta dupla no C₉ favorece a presença de atividade ($\Delta^9 > \Delta^8 > \Delta^6$ -THC); esterificação de grupos fenólicos no anel C, mantém a atividade e, o comprimento da cadeia lateral ligada ao anel C pode ser modificada sem perda de atividade. Mas, uma cadeia de 3 carbonos parece ser a condição mínima para a atividade; ramificações nesta cadeia aumentam a potência. A adição de cadeias laterais ao anel C também pode ser realizada via um átomo de oxigênio (formando um éter) sem perda de atividade **ver figura 19**^{60 91 92}.

Existem 10 classes de cannabinóides, conhecidas como Cannabidiol, Cannabicromeno, Cannabigerol, Δ^9 -tetrahydrocannabinol, Δ^8 - tetrahydrocannabinol, Cannabiciolol, Cannabielsoin, Cannabinol, Cannabinodiol, Cannabistriol além de

Tipos diferentes de cannabinóides, Noncannabinóidesfenóis e endocannabinóides⁶⁰.
Ver figura 20 e tabela 2.

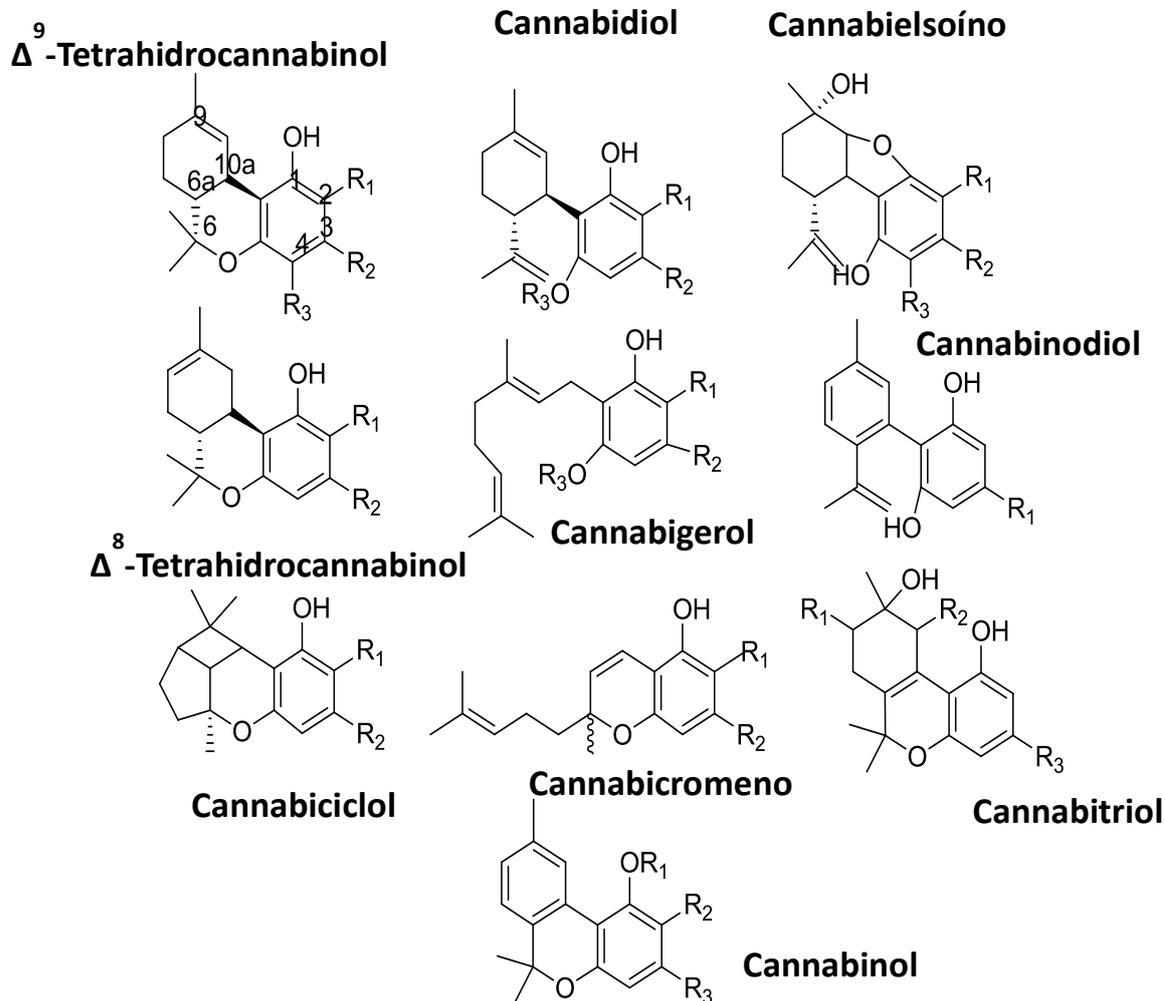


Figura 20 Classes de Cannabinóides

Fonte: ELSOHLY & SLADE, 2005

Em destaque as principais classes de cannabinóides encontradas na planta *Cannabis sativa* L..

A diferença entre compostos de mesma classe, geralmente se dá pelo, número de carbonos na cadeia lateral, podendo variar de 1 a 5 carbonos. Alguns compostos apresentam isômeros de posição e são chamados na nomenclatura de A ou B, por exemplo: Ácido trans-Δ⁹-tetrahydrocannabinólico A e Ácido trans-Δ⁹-tetrahydrocannabinólico B, onde a diferença está na posição da carboxila. O composto A apresenta carboxila em R₁ e o composto B apresenta carboxila em R₃. A tabela 2 apresenta os grupos identificados por R₁, R₂ e R₃ das diferentes classes de cannabinóides.

Tabela 2 Grupos de diferentes classes de cannabinóides identificados por R₁, R₂ e R₃.

Classe	Compostos	R ₁	R ₂	R ₃	Principal característica farmacológica
Cannabigerol	Ácido Cannabigerólico [(E)-CBGA-C ₅ A]	COOH	n-C ₅ H ₁₁	H	antibiótico
Cannabigerol	Ácido Cannabigerólico A monometiléter [(E)-CBGAM-C ₅ A]	COOH	n-C ₅ H ₁₁	Me	
Cannabigerol	Cannabigerol [(E)-CBG-C ₅]	H	n-C ₅ H ₁₁	H	Antibiótico, antifungal, anti- inflamatório e analgésico
Cannabigerol	Cannabigerol monometiléter [(E)-CBGM-C ₅]	H	n-C ₅ H ₁₁	Me	
Cannabigerol	Ácido Cannabigerovarínico A [(E)-CBGVA-C ₃ A]	COOH	n-C ₃ H ₇	H	
Cannabigerol	Cannabigerovarino [(E)-CBGV-C ₃]	H	n-C ₃ H ₇	H	
Cannabicromeno	(±)-Ácido cannabicromênico (CBCA-C ₅ A)	COOH	n-C ₅ H ₁₁	(CH ₂) ₂ CH=C(CH ₃) ₂	
Cannabicromeno	(±) Cannabicromeno (CBC-C ₅)	H	n-C ₅ H ₁₁	(CH ₂) ₂ CH=C(CH ₃) ₂	Antibiótico, antifungal, anti- inflamatório e analgésico
Cannabicromeno	(±) Ácido cannabicromevarínico (CBCVA-C ₃ A)	COOH	n-C ₃ H ₇	(CH ₂) ₂ CH=C(CH ₃) ₂	
Cannabicromeno	(±) Cannabivaricromeno (CBCV-C ₃)	COOH	n-C ₃ H ₇	(CH ₂) ₂ CH=C(CH ₃) ₂	
Cannabicromeno	(+)-Cannabicromevarino (CBCV-C ₃)	H	n-C ₃ H ₇	(CH ₂) ₂ CH=C(CH ₃) ₂	

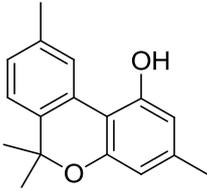
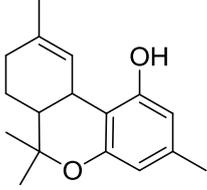
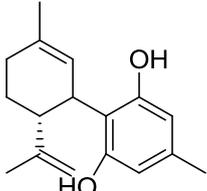
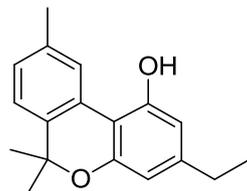
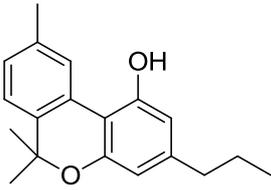
Cannabicromeno	2-Metil-2-(4-metil-2-pentenil)-7-propil-2H-1-benzopiran-5-ol	H	n-C ₃ H ₇	(CH ₂) ₂ CH=C HCH(CH ₃) ₂	
Cannabidiol	Ácido cannabidiólico (CBDA-C ₅)	COOH	n-C ₅ H ₁₁	H	Antibiótico
Cannabidiol	(-)-Cannabidiol (CBD-C ₅)	H	n-C ₅ H ₁₁	H	Ansiolítico, antipsicótico, analgésico, anti-inflamatório, antioxidante e antiespasmódico
Cannabidiol	Cannabidiol monometil éter (CBDM-C ₅)	H	n-C ₅ H ₁₁	Me	
Cannabidiol	Cannabidiol -C ₄ (CBD-C ₄)	H	n-C ₄ H ₉	H	
Cannabidiol	Ácido cannabidivarínico (CBDVA-C ₃)	COOH	n-C ₃ H ₇	H	
Cannabidiol	(-)-Cannabidivarino (CBDV-C ₃)	H	n-C ₃ H ₇	H	
Cannabidiol	Cannabidiorcol (CBD-C ₁)	H	CH ₃	H	
Δ ⁹ -trans- THC	Ácido Tetrahidrocannabinólico A (Δ ⁹ -THCA-C ₅ A)	COOH	n-C ₅ H ₁₁	H	
Δ ⁹ -trans- THC	Tetrahydrocannabinol	H	n-C ₅ H ₁₁	H	Euforiante, analgésico, anti-inflamatório, antioxidante e antiemético
Δ ⁹ -trans- THC	Ácido tetrahidrocannabinólico C ₄ A e/ou B	COOH ou H	n-C ₄ H ₉	H ou COOH	
Δ ⁹ -trans- THC	Tetrahydrocannabinol- C ₄ (Δ ⁹ -THC-C ₄)	H	n-C ₄ H ₉	H	
Δ ⁹ -trans- THC	Ácido				

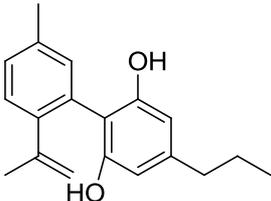
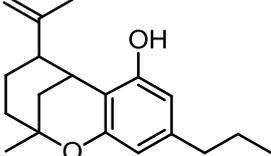
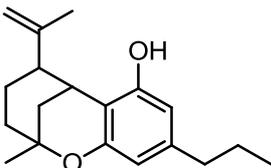
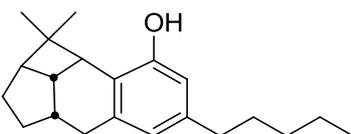
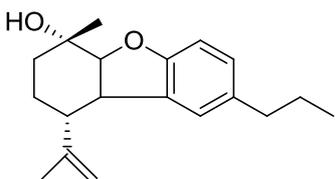
	Tetrahydrocannabivarínico A (Δ^9 -THCVA-C ₃ A)	COOH	n-C ₃ H ₇	H	
Δ^9 -trans- THC	Tetrahydrocannabivarino (Δ^9 -THCV-C ₃)	H	n-C ₃ H ₇	H	Analgésico e euforizante
Δ^9 -trans- THC	Ácido Tetrahydrocannabinorcolico (Δ^9 -THCOA-C ₁ A/B)	COOH ou H	CH ₃	H ou COOH	
Δ^9 -trans- THC	Tetrahydrocannabinorcol (Δ^9 -THCO-C ₁)	H	CH ₃	H	
Δ^8 -trans-THC	(-)- Δ^8 -trans-(6aR,10aR)- Ácido tetrahydrocannabinólico A (Δ^8 -THCA-C ₅ A)	COOH			
Δ^8 -trans-THC	(-)- Δ^8 -trans-(6aR,10aR)- tetrahydrocannabinol (Δ^8 -THC-C ₅)	H			Similar ao THC, menos potente
Cannabiciólol	(±)-(1aS, 3aR, 8bR, 8cR)- Ácido cannabiciólólico (CBLA-C ₅ A)	COOH	n-C ₅ H ₁₁		
Cannabiciólol	(±)-(1aS, 3aR, 8bR, 8cR)- cannabiciólol (CBL-C ₅)	H	n-C ₅ H ₁₁		
Cannabiciólol	(±)-(1aS, 3aR, 8bR, 8cR)- cannabiciólvarino (CBLV-C ₃)	H	n-C ₃ H ₇		
Cannabielsoino	(5aS, 6S, 9R, 9aR)- C ₅ Ácido cannabielsoínico A/B (CBEA-C ₅ A/B)	COOH	H	n-C ₅ H ₁₁	
Cannabielsoino	(5aS, 6S, 9R, 9aR)- C ₅ Ácido cannabielsoínico B (CBEA-C ₅ B)	H	COOH	n-C ₅ H ₁₁	

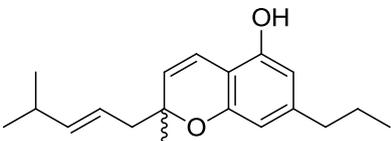
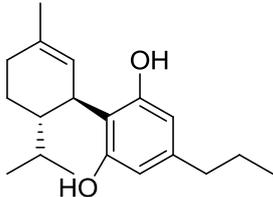
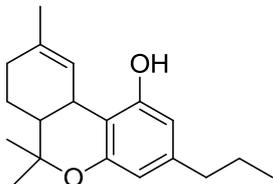
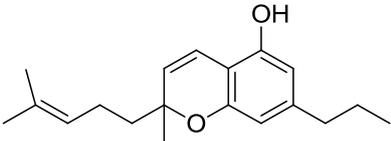
Cannabielsoino	(5aS, 6S, 9R, 9aR)-C ₃ - Ácido cannabielsóico B (CBEA-C ₃ B)	H	COOH	n-C ₃ H ₇	
Cannabielsoino	(5aS, 6S, 9R, 9aR)- Cannabielsoino (CBE-C ₅)	H	H	n-C ₅ H ₁₁	
Cannabielsoino	(5aS, 6S, 9R, 9aR)-C ₃ - Cannabielsoino (CBE-C ₃)	H	H	n-C ₃ H ₇	
Cannabinol	Ácido cannabinólico A (CBNA-C ₅ A)	H	COOH	n-C ₅ H ₁₁	
Cannabinol	Cannabinol (CBN-C ₅)	H	H	n-C ₅ H ₁₁	Sedativo, antibiótico, anticonvulsivo e anti- inflamatório
Cannabinol	Cannabinol metil éter (CBNM-C ₅)	CH ₃	H	n-C ₅ H ₁₁	
Cannabinol	Cannabinol-C ₄ (CBN-C ₄)	H	H	n-C ₄ H ₉	
Cannabinol	Cannabivarino (CBN-C ₃)	H	H	n-C ₃ H ₇	
Cannabinol	Cannabinol-C ₂ (CBN-C ₂)	H	H	n-C ₂ H ₅	
Cannabinol	Cannbiorcol-C ₁ (CBN-C ₁)	H	H	CH ₃	
Cannabinodiol	Cannabinodiol (CBND-C ₅)	n-C ₅ H ₁₁			
Cannabinodiol	Cannabinodivarino (CBVD-C ₃)	n-C ₃ H ₇			
Cannabitriol	Cannabitriol CBT	H	OH	n-C ₅ H ₁₁	
Cannabitriol	10-etóxi-9-hidroxi- Δ^6 - tetrahidrocannabinol	H	OC ₂ H ₅	n-C ₅ H ₁₁	
Cannabitriol	8,9-dihidróxi- Δ^6 - tetrahidrocannabinol	OH	H	n-C ₅ H ₁₁	
Cannabitriol	Cannabitrolvarino CBTV	H	OH	n-C ₃ H ₇	
Cannabitriol	Etóxi-cannabitrolvarino CBTVE	H	OC ₂ H ₅	n-C ₃ H ₇	

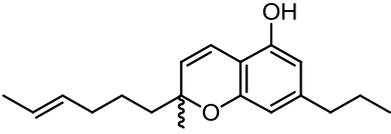
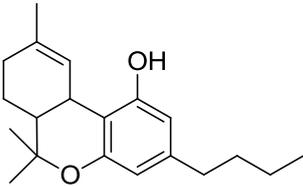
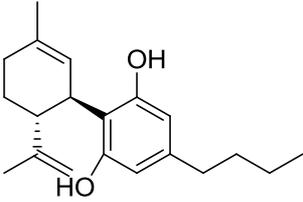
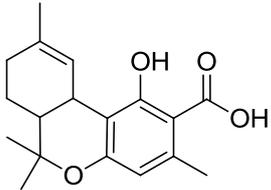
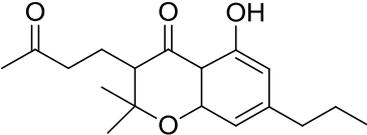
Fonte: (ELSOHLY & SLADE, 2005) Modificada

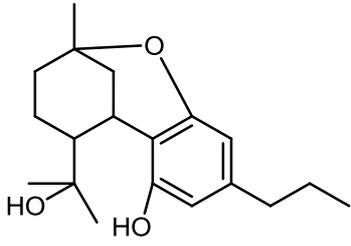
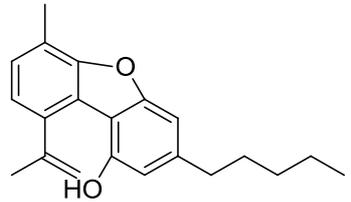
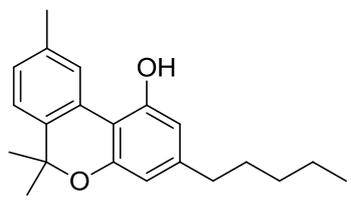
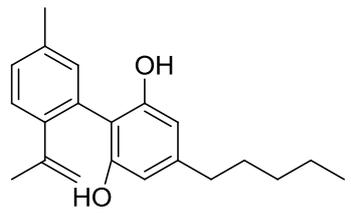
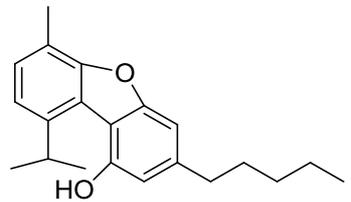
Tabela 3. Cannabinóides isolados e identificados.

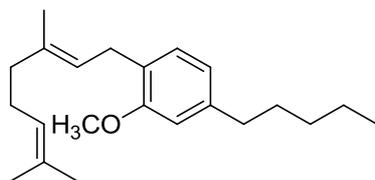
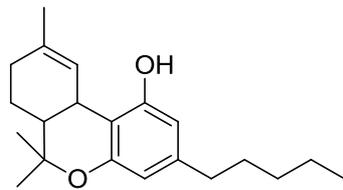
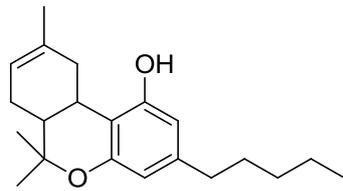
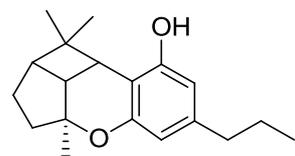
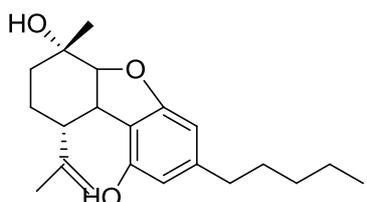
<i>m/z</i>	FÓRMULA	CLASSE	DBE	NOME / SIGLA
254	C ₁₇ H ₁₈ O ₂	Cannabinol	9	Cannabiorcol-C ₁ (CBN-C ₁) 
258	C ₁₇ H ₂₂ O ₂	Δ ⁹ -trans THC	7	Tetrahidrocannabiorcol (Δ ⁹ -THCO-C ₁) 
258	C ₁₇ H ₂₂ O ₂	Cannabidiorcol	7	Cannabidiorcol (CBD-C ₁) 
268	C ₁₈ H ₂₀ O ₂	Cannabinol	9	Cannabinol-C ₂ (CBN-C ₂) 
282	C ₁₉ H ₂₂ O ₂	Cannabinol	9	Cannabivarino (CBN-C ₃) 

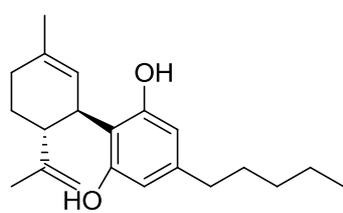
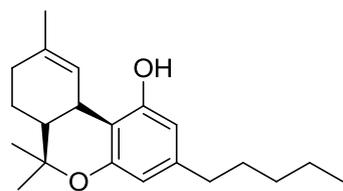
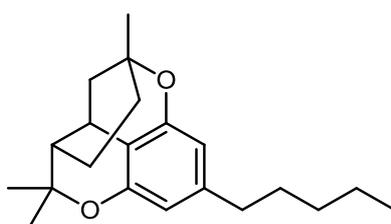
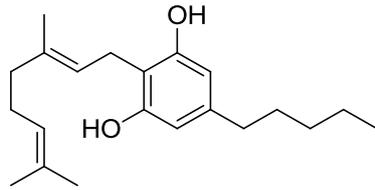
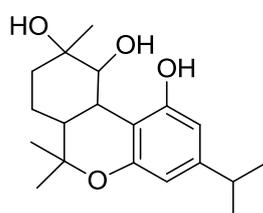
282	$C_{19}H_{22}O_2$	Cannabinodiol	9	<p>Cannabinodivarino (CBVD-C_3)</p> 
284	$C_{19}H_{24}O_2$	Tipos diferentes	7	<p>(\pm)-Δ^7-cis-(1R,3R,6S) Isotetrahidrocannabivarino-C_3</p> 
284	$C_{19}H_{24}O_2$	Tipos diferentes	7	<p>(-)-Δ^7-trans-(1R,3R,6R) Isotetrahidrocannabinol-C_5</p> 
285	$C_{19}H_{25}O_2$	Cannabiciclol	7	<p>(\pm)- (1aS, 3aR, 8bR, 8cR)- Cannabiciclovarino (CBLV-C_3)</p> 
286	$C_{19}H_{26}O_2$	Δ^9 -trans-THC	7	<p>(5aS, 6S, 9R, 9aR)-C_3- Cannabielsoino (CBE-C_3)</p> 

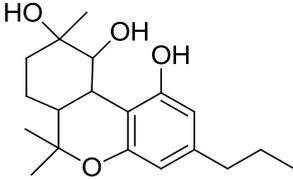
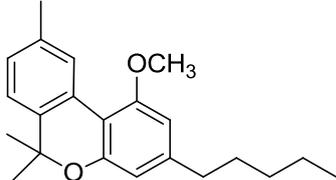
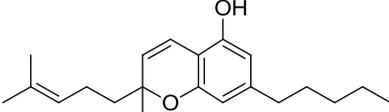
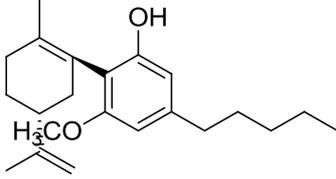
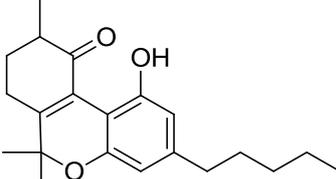
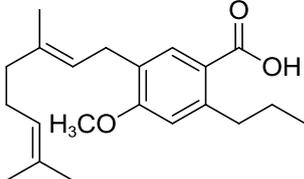
286	$C_{19}H_{26}O_2$	Cannabicromeno	7	<p>2-metil-2-(4-metil-2-pentenil)-7-propil-2H-1-benzopiran-5-ol</p> 
286	$C_{19}H_{26}O_2$	Cannabidiol	7	<p>(-)-Cannabidivarino (CBDV-C₃)</p> 
286	$C_{19}H_{26}O_2$	Δ^9 -trans THC	7	<p>Tetrahydrocannabivarino Δ^9-THCV-C₃</p> 
286	$C_{19}H_{26}O_2$	Cannabicromeno	7	<p>Cannabicromevarino CBCV-C₃</p> 
296	$C_{20}H_{24}O_2$	Cannabinol	9	<p>Cannabinol – C₄ (CBN-C₄)</p> 

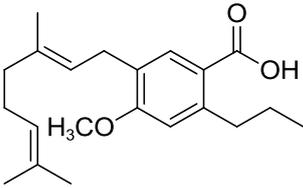
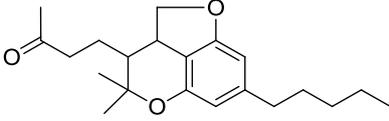
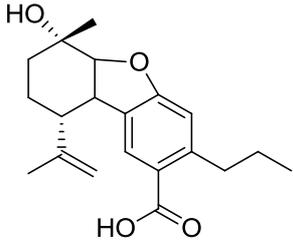
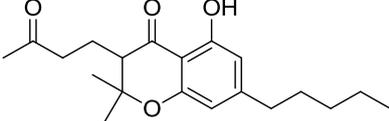
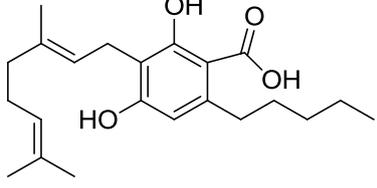
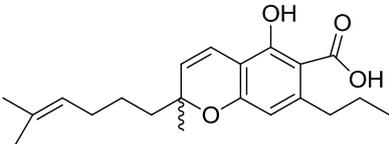
300	$C_{20}H_{28}O_2$	Cannabicromeno	7	(±)-Cannabivaricromeno CBCV-C ₃ /CBCV ₃ 
300	$C_{20}H_{28}O_2$	Cannabicromeno	7	Tetrahidrocannabinol- C ₄ (Δ^9 -THC-C ₄) 
300	$C_{20}H_{28}O_2$	Cannabidiol	7	Cannabidiol-C ₄ (CBD-C ₄) 
302	$C_{18}H_{22}O_4$	Δ^9 -trans-THC	8	Ácido Tetrahidrocannabiniorcólico Δ^9 -THCOA-C ₁ A ou B 
304	$C_{18}H_{24}O_4$	Tipos diferentes	7	Cannabicromanono-C ₃ (CBCN - C ₃) 
				Cannabiglendol-C ₃

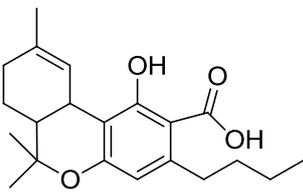
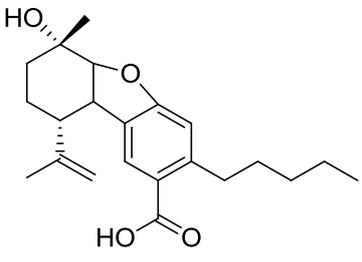
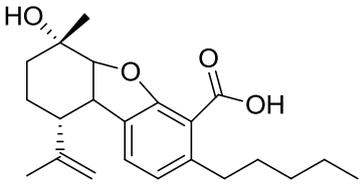
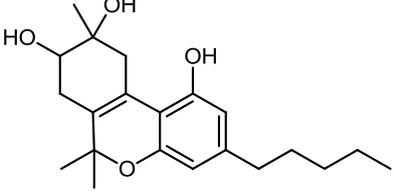
304	$C_{19}H_{28}O_3$	Tipos diferentes	6	(OH-iso-HHCV-C ₃) 
308	$C_{21}H_{24}O_2$	Tipos diferentes	10	Dehidrocannabifurano (DCBF-C ₅) 
310	$C_{21}H_{26}O_2$	Cannabinol	9	Cannabinol CBN-C ₅ 
310	$C_{21}H_{26}O_2$	Cannabinodiol	9	Cannabinodiol CBND-C ₅ 
310	$C_{21}H_{26}O_2$	Tipos diferentes	9	Cannabifurano CBF-C ₅ 

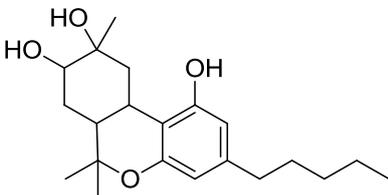
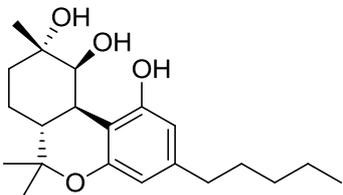
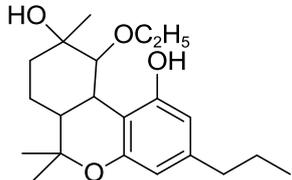
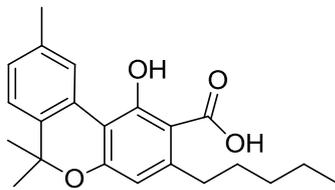
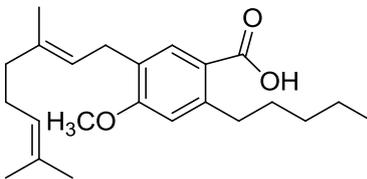
314	$C_{22}H_{34}O$	Cannabigerol	6	<p>Cannabigerol monometil éter [(E)- CBGM-C₅]</p> 
314	$C_{21}H_{30}O_2$	Δ^9 -trans-THC	7	<p>Δ^9-trans-Tetrahydrocannabinol (Δ^9-THC-C₅)</p> 
314	$C_{21}H_{30}O_2$	Δ^8 -trans-THC	7	<p>(-)-Δ^8-trans- Tetrahydrocannabinol (Δ^8-THC-C₅)</p> 
314	$C_{21}H_{30}O_2$	Cannabicyclol	7	<p>(±)-(1aS, 3aR, 8bR, 8cR)- Cannabicyclol CBL-C₅</p> 
314	$C_{21}H_{30}O_2$	Cannabielsoino	7	<p>(5aS, 6S, 9R, 9aR) – Cannabielsoino (CBE-C₅)</p> 

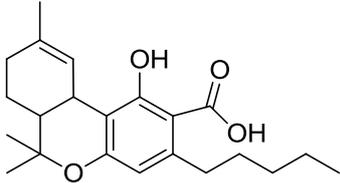
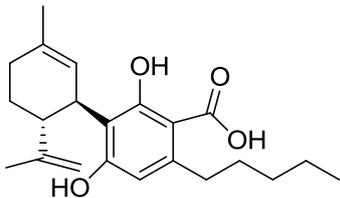
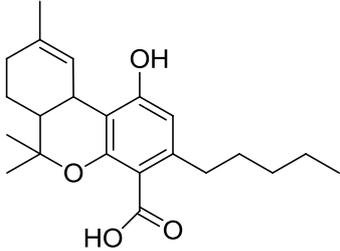
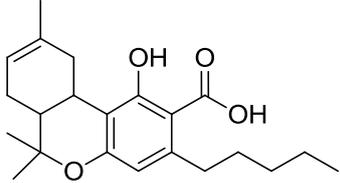
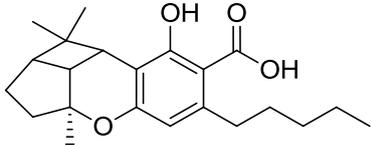
314	$C_{21}H_{30}O_2$	Cannabidiol	7	(-)-Cannabidiol (CBD-C ₅) 
314	$C_{21}H_{30}O_2$	Δ^9 -trans-THC	7	[(-)-cis- Δ^9 -THC-C ₅] 
315	$C_{21}H_{31}O_2$	Tipos diferentes	7	Cannabicitrano (CBT-C ₅) 
316	$C_{21}H_{32}O_2$	Cannabigerol	6	Cannabigerol [(E)-CBG-C ₅] 
320	$C_{19}H_{28}O_4$	Cannabitrinol	6	Cannabitrinol-C ₃ CBT-C ₃ 

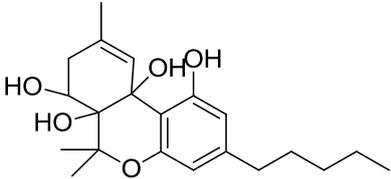
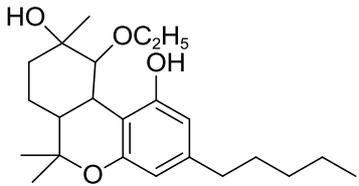
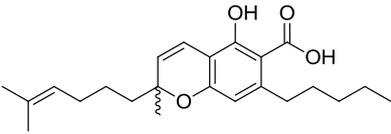
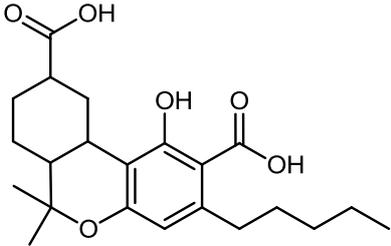
320	$C_{19}H_{28}O_4$	Cannabitríol	6	(±)-trans-Cannabitríol- C_3 [(±)-trans-CBT- C_3] 
324	$C_{22}H_{28}O_2$	Cannabinol	9	Cannabinol metiléter (CBNM- C_5) 
328	$C_{22}H_{32}O_2$	Cannabicromeno	7	(±)-Cannabicromeno (CBC- C_5) 
328	$C_{22}H_{32}O_2$	Cannabidiol	7	Cannabidiol monometiléter (CBDM- C_5) 
328	$C_{21}H_{28}O_3$	Tipos diferentes	8	Oxo-tetrahidrocannabinol OTHC 
330	$C_{21}H_{30}O_3$	Cannabigerol	7	Ácido Cannabigerovarínico [(E)-CBGVA- C_3 A] 

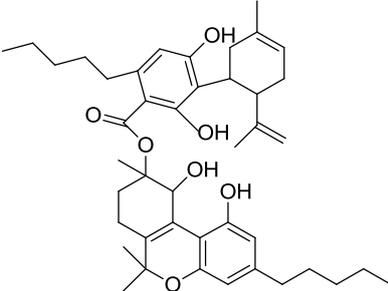
330	$C_{20}H_{26}O_4$	Cannabidiol	7	<p>Ácido Cannabidivarínico (CBDVA-C₃)</p> 
330	$C_{21}H_{30}O_3$	Tipos diferentes	7	<p>Cannabicoumarono- C₅ (CBCON-C₅)</p> 
330	$C_{20}H_{26}O_4$	Cannabielsoino	8	<p>(5aS, 6S, 9R, 9aR)-C₃- Ácido Cannabielsóico B (CBEA -C₃B)</p> 
332	$C_{20}H_{28}O_4$	Tipos diferentes	7	<p>Cannabicromanono (CBCN-C₅)</p> 
344	$C_{22}H_{32}O_3$	Cannabigerol	7	<p>Ácido cannabigerólico A [(E)-CBGA-C₅A</p> 
344	$C_{21}H_{28}O_4$	Cannabicromeno	8	<p>(±)-Ácido Cannabicromevarínico (CBCVA-C₃ A)</p> 

344	$C_{21}H_{28}O_4$	Δ^9 -trans-THC	8	<p>Ácido Tetrahidrocannabinólico - C_4 Δ^9-trans-THCA-C_4 A e/ou B</p> 
346	$C_{21}H_{30}O_4$	Cannabielsoino	8	<p>(5aS, 6S, 9R, 9aR) Ácido Cannabielsóico B (CBEA-C_5 B)</p> 
346	$C_{21}H_{30}O_4$	Cannabielsoino	8	<p>(5aS, 6S, 9R, 9aR) - Ácido Cannabielsóico A (CBEA-C_5 A)</p> 
346	$C_{21}H_{30}O_4$	Cannabitriol	7	<p>(-)-trans-cannabitriol [(-)-trans-CBT-C_5]</p> 

348	$C_{21}H_{32}O_4$	Cannabitríol	6	<p>8,9-Dihidroxi-$\Delta^{6a(10a)}$- tetrahidrocannabinol [8,9-Di-OH-CBT-c_5]</p> 
348	$C_{21}H_{32}O_4$	Tipos diferentes	6	<p>(-)-(6aR, 9S, 10S, 10aR)-9,10- Dihidroxihexahidrocannabinol [(-)-Cannabiripsol-C_5]</p> 
348	$C_{21}H_{32}O_4$	Cannabitríol	6	<p>Trans-10-etóxi-9-hidróxi-$\Delta^{6a(10a)}$- tetrahidrocannabivarino-C_3 [trans-CBT-OEt-C_3]</p> 
354	$C_{22}H_{26}O_4$	Cannabinol	10	<p>Ácido Cannabinólico A (CBNA-C_5 A)</p> 
358	$C_{23}H_{34}O_3$	Cannabigerol	7	<p>Ácido Cannabigerólico A monometiléter [(E)-CBGAM-C_5 A]</p> 

358	$C_{22}H_{30}O_4$	Δ^9 -trans-THC	8	<p>ÁcidoTetrahidrocannabinólico A ou B Δ^9-THCA-C₅ A/B</p> 
358	$C_{22}H_{30}O_4$	Cannabidiol	8	<p>Ácido Cannabidiólico (CBDA-C₅)</p> 
358	$C_{22}H_{30}O_4$	Δ^9 -trans-THC	8	<p>Ácido Tetrahidrocannabinólico B (Δ^9-THCA-C₅ B)</p> 
358	$C_{22}H_{30}O_4$	Δ^8 -trans-THC	8	<p>(-)-Δ^8-trans-(6aR, 10aR)- Ácido Tetrahidrocannabinólico A (Δ^8-THCA-C₅ A)</p> 
358	$C_{22}H_{30}O_4$	Cannabiciólol	8	<p>(±)-(1aS, 3aR, 8bR, 8cR)- Ácido Cannabiciclólico (CBLA-C₅ A)</p> 

362	$C_{21}H_{30}O_5$	Tipos diferentes	7	<p>(-)-6_a, 7, 10_a-Trihidróxi-Δ^9-tetrahidrocannabinol [(-)-Cannabitol]</p> 
364	$C_{22}H_{36}O_4$	Cannabitol	6	<p>(-)-trans-10-Etóxi-9-hidroxi-$\Delta^{6a(10a)}$-tetrahidrocannabinol [(-)-trans-CBT-OEt-C₅]</p> 
372	$C_{23}H_{32}O_4$	Cannabimeno	8	<p>Ácido Cannabicromênico A [(E)-CBCA-C₅ A]</p> 
390	$C_{22}H_{30}O_6$	Tipos diferentes	8	<p>8β-11-bis-hidroxi-Δ^9-THCA-A</p> 
400	$C_{24}H_{31}O_5$	Tipos diferentes	9	<p>[Δ^9-THCA + C₂H₂O]</p>

673	$C_{43}H_{61}O_7$	Cannabitríol	14	<p>Ácido Cannabidiólico-tetrahidrocannabitríol - éster (CBDA-C₅ 9-OH-CBT-C₅ éster)</p> 
-----	-------------------	--------------	----	---

Fonte: (ELSOHLY & SLADE, 2005) Modificada

O principal precursor biogênico é o ácido THCA A (bactericida e antibiótico), sofre descarboxilação a 125 - 150°C, formando o Δ^9 -trans-THC⁴⁶ ver figura 21. Entretanto, a maioria dos isômeros do Δ^9 -trans-THC não apresenta atividade biológica, ou seja, efeito psicotrópico. Este composto é insolúvel em água (2,8mg/L), solúvel em solventes como metanol, etanol, clorofórmio, hexano, éter de petróleo, acetonitrila, etc; analgésico, euforizante, antiemético, antiespasmódico, antiproliferativo, antitremor e anti-inflamatório, apresenta pKa igual a 10,6, viscoso. Sua estrutura possui um grupo fenol e um grupo éter⁴⁶.

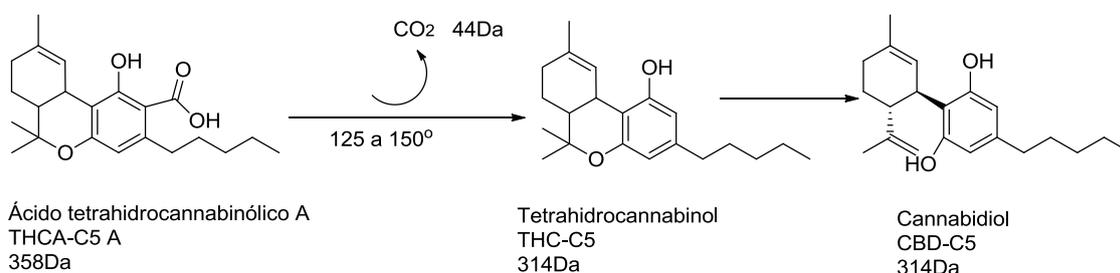


Figura 21. Esquema de descarboxilação do ácido tetrahidrocannabinólico A (THCA-A), e rearranjo de THC para CBD.

Dentre os isômeros, o CBD-C₅ ((-)-Cannabidiol-C₅) é o mais estudado, pertence à classe Cannabidiol, foi isolado em 1940⁹³, uma estrutura foi proposta em 1963 por Mechoulam e Shvo, mas foi elucidada em 1977, com auxílio de RMN⁹⁴. Apresenta ponto de fusão 66-67°C, insolúvel em água, é ansiolítico, analgésico, antipsicótico, anti-inflamatório, antioxidante e antiespasmódico⁴⁶ ver figura 21. O CBD-C₅ se diferencia do Δ^9 -trans-THC por não apresentar anel heterocíclico, e sua numeração para a nomenclatura segue o anel de terpeno, que é quase

perpendicular ao anel aromático. O Δ^9 -trans-THC apresenta um anel de pirano, que determina a numeração para a nomenclatura⁹⁵.

A classe Cannabidiol apresenta sete diferentes cannabinóides de cadeia lateral variando de um a cinco carbonos. Juntamente com o seu ácido (CBDA), isolado em 1955, formam os cannabinóides mais abundantes em fibra tipo Cannabis (cânhamo industrial)⁴⁹. O CBD (cannabidiol) aumenta alguns dos efeitos do THC e diminui outros efeitos. Altos níveis de THC e níveis baixos de CBD contribuem para uma forte e clara ação psicoativa, bem mais enérgica. A planta com alto nível de THC e CBD irá produzir uma ação bastante intensa de modificação do sistema nervoso central (“forte chapação”), enquanto plantas com alto teor de CBD e baixo teor de THC fazem com que a mente se tranquilize e o corpo fique relaxado⁴⁹.

O Cannabinol (CBN) é produzido quando o THC se decompõe pelo calor e pela luz. Altos teores de CBN tendem a fazer o usuário se sentir confuso, ao invés de relaxado. Os níveis de CBN podem ser reduzidos, armazenando produtos de Cannabis no escuro, em ambiente fresco e hermético. É sedativo, antibiótico, anticonvulsivante e anti-inflamatório, e apresenta ponto de fusão de 77°C⁴⁶. O Cannabinodiol (CBND) é derivado da oxidação de CBD. A sua concentração em produtos de Cannabis depende da idade e das condições de armazenamento. CBN foi nomeado em 1896⁹⁶, e a sua estrutura elucidada em 1940^{97 98}.

Entre os canabinóides identificados, o Cannabigerol (CBG) antibiótico, fungicida, anti-inflamatório e analgésico⁴⁶ foi elucidado pela primeira vez através do seu precursor⁹⁹, o ácido cannabigerólico (CBGA), e mostrou ser o primeiro cannabinóide biogênico formado na planta⁶². A classe correspondente a esse composto apresenta como estrutura básica um radical propil na cadeia lateral, e um derivado de monometiléter. Três compostos caracterizados por um anel de cinco átomos de carbono formam a classe denominada Cannabiciolol. O CBL (Cannabiciolol) é gerado a partir do CBC (Cannabicromeno), durante a extração e pela ação da luz (decomposição). Não há relatos sobre a sua atividade em seres humanos, onde é encontrado em pequenas quantidades. A classe cannabiciolol é formada por mais cinco diferentes compostos cannabinóides⁶⁰. Canabicromeno é antibiótico, fungicida, anti-inflamatório e analgésico⁴⁶.

O Cannabitriol foi isolado em 1966¹⁰⁰, e sua estrutura determinada em 1976¹⁰¹. A classe Cannabielsoin tem como principal composto Cannabielsoin, sua

estrutura e configuração absoluta foi estabelecida pela síntese CBE-C5, utilizando canabidiol diacetato como material de partida¹⁰².

A classe Tipos diferentes é formada por Cannabinóides diferentes das outras classes, não há uma estrutura padrão e é a única classe a qual apresenta compostos com a função cetona.

Além dos fitocannabinóides, objeto de estudo deste trabalho, existem ainda os endocannabinóides, presentes no sistema nervoso central, como a anandamida (**fig. 22**), um neurotransmissor endógeno que atua em áreas como a memória, fome, sono e sensação de dor. Os Cannabinóides Sintéticos, como o composto psicotrópico JWH 018 **figura 22**, usado como analgésico, foi proscrito pela ANVISA¹⁰³. Os Fenóis Noncannabinóides como o linalol, guaiacol, ácido ferúlico, ácido *p* – hidroxicinâmico, Cannflavino A e Cannflavino B e diversos outros já identificados na planta¹⁰⁴.

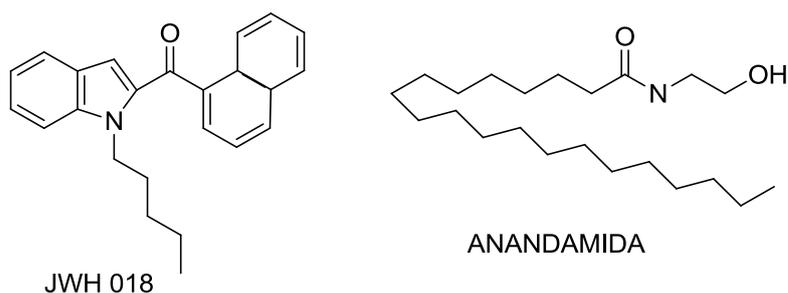


Figura 22 Estrutura do Cannabinóide Sintético JWH 018 e do Endocannabinóide Anandamida. O JWH018 apresenta a mesma atividade psicotrópica do Δ^9 -THC, encontrado em incensos conhecidos como K2 e Spice.

Fonte: ALVES, SPANIOL, & LINDEN, 2012

1.6 Espectrometria de Massas

Em se tratando de problemas relacionados com a Química Forense, uma das técnicas comumente empregadas é a espectrometria de massas (MS). A MS é uma técnica que consiste na ionização das moléculas de interesse, e separação dos íons com base em suas diferentes razões massa/carga, m/z ¹⁰⁵. É importante ressaltar que a MS não analisa átomos neutros ou moléculas neutras, e, sim, espécies iônicas. Antes de discriminar os íons é necessário, primeiramente, gerá-los, utilizando um sistema de ionização ou fonte de íons. Os diferentes tipos de fonte de ionização e analisadores de massas determinam a aplicabilidade da MS. A **Figura**

23 apresenta um diagrama esquemático de um espectrômetro de massas. Em geral, a análise de um composto compreende cinco etapas: (i) a introdução da amostra, (ii) a ionização das moléculas, (iii) a passagem por um analisador de massas que separa os íons formados de acordo com a razão m/z , (iv) o detector que “conta” os íons e transforma o sinal em corrente elétrica e, (v) o processador que converte a magnitude do sinal elétrico em função da razão m/z em dados, proporcionando um espectro de massas correspondente¹⁰⁶.

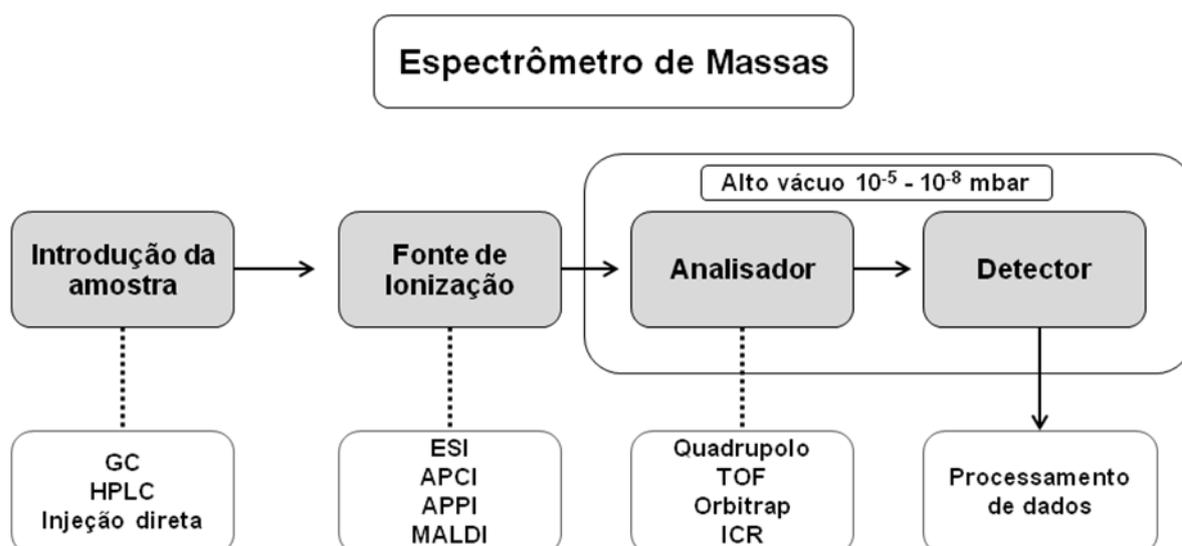


Figura 23 Diagrama esquemático de um espectrômetro de massas

Fonte: DALMASCHIO, 2012

A **Figura 23** também mostra que o analisador de massas e o sistema de detecção são mantidos sob alto vácuo, o que não se aplica necessariamente aos sistemas de ionização, pois alguns deles estão à pressão atmosférica, fato que revolucionou a espectrometria de massas. Os sistemas de ionização determinam a versatilidade da MS, pois as fontes de íons são responsáveis pelos tipos de analitos que podem ser analisados. Inúmeros métodos para gerar íons foram desenvolvidos ao longo da história da MS. Desse modo há métodos de ionização aplicáveis praticamente a todos os tipos de analitos, desde moléculas apolares e voláteis, onde fontes de ionização por elétrons: electron ionization (EI); ou a ionização química: (chemical ionization (CI) podem ser utilizados), passando por moléculas polares como a ionização por eletrospray (ESI, electrospray ionization), técnica à pressão atmosférica que transfere íons em solução para fase gasosa ou matrix assisted laser desorption/ionization (MALDI); até técnicas de ionização ambiente como a easy

ambient sonic-spray ionization (EASI), que tornaram a introdução da amostra em MS mais simples e prática.

Existem diferentes estratégias para se discriminar os íons dependendo do analisador de massas. O mais comum é o monoquadrupolo que possui resolução unitária. Outros analisadores que podem ser citados são os de aprisionamento de íons, ion trap (IT), tempo de voo (TOF) e ressonância ciclôtrica de íons (ICR). Cada analisador possui diferenças de resolução e exatidão, de acordo com sua eletrônica e princípio físico utilizado para discriminar as razões m/z medidas.

A **figura 24a**, assim o íon de m/z 249 com resolução unitária pode se referir à fórmula molecular $C_{20}H_9$, $C_{19}H_7N$ ou $C_{13}H_{19}N_3O_2$; já um analisador de alta resolução mede a massa exata de cada isótopo mais abundante (**Figura 24b**). Assim, é possível atribuir fórmulas moleculares para cada sinal resolvido, de acordo com o seu defeito de massa: 249,0700 ($C_{20}H_9$), 249,0580 ($C_{19}H_7N$) e 249,1479 ($C_{13}H_{19}N_3O_2$). Assim, a resolução pode ser definida como a capacidade do analisador medir m/z com a menor diferença possível da m/z teórica, o que possibilita inferir uma fórmula molecular baseada nos defeitos de massas. Existem analisadores que possuem resoluções que vão de 5.000 a 1.000.000. A exatidão é medida pelo erro calculado em ppm do desvio da medida experimental, em relação ao valor de massa teórico; ou seja, ela indica o quão próximo o valor experimental está do valor verdadeiro. A alta exatidão de massas oscila de valores entre 0,1 a 50 ppm de erro. Quanto menor o erro, maior é a probabilidade de a fórmula molecular atribuída ser a verdadeira¹⁰⁷.

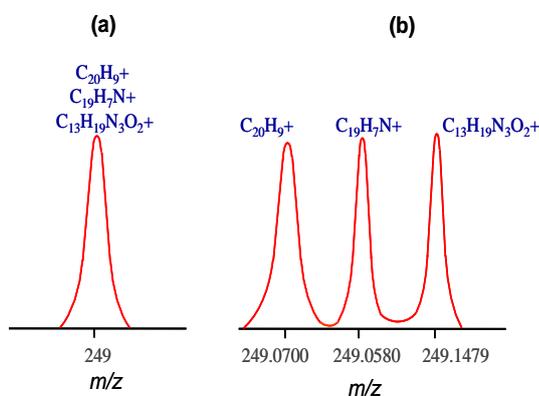


Figura 24 Esquema ilustrativo da resolução em analisadores de massas com (a) resolução unitária (b) alta resolução.

Fonte: ROMÃO, 2010

O erro é calculado conforme a equação 2 citada abaixo:

$$\text{Erro (ppm)} = \frac{\text{massa}_{\text{medida}} - \text{massa}_{\text{teórica}}}{\text{massa}_{\text{teórica}}} \times 10^6 \quad (2)$$

1.6.1 – Fonte de Ionização

1.6.1.1- Eletrospray (ESI)

No que se refere às fontes de ionização, os estudos mais recentes têm sido focados na obtenção de sistemas menos agressivos às amostras, e também capazes de ionizar as moléculas diretamente da matriz, o que facilita o processo de identificação e reduz o tempo de análise, respectivamente. Nesse sentido, uma nova vertente de fontes de ionização surge, e que permite que os íons sejam gerados em condições mais suaves em termos de temperatura e/ou pressão.

A primeira técnica menos agressiva de ionização e amplamente utilizada foi a ESI (do inglês electrospray ionization), sendo aplicada especificamente para amostras em solução. Na ionização por ESI, a amostra é misturada a um solvente volátil, em meio ácido ou básico, de forma a causar a protonação ou desprotonação das moléculas, **Figura 25**. A mistura é conduzida por um capilar metálico submetido a um alto potencial elétrico, resultando na formação de uma dupla camada elétrica na interface capilar/solução. Consequentemente, formam-se gotas carregadas que, com a secagem do solvente, vão aumentando a densidade de cargas até o ponto em que ocorre um fenômeno chamado de explosão coulômbica. Assim, são formadas microgotas que, com a secagem, liberam os íons $[M+H]^+$ ou $[M-H]^-$ para serem analisados pelo analisador de massas. A técnica ESI tem sido amplamente utilizada nos últimos anos, tanto para a identificação e quantificação, como também para estudos de determinação estrutural. Os íons podem também ser observados na forma de adutos, onde são coordenados por cátions ou ânions: $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$, $[M+NH_4]^+$ ou $[M+Cl]^-$.

Em geral, a ionização por ESI (**ver figura 25**) é um processo que pode ser dividido em três etapas principais: (i) a nebulização da solução de amostra em gotículas carregadas produzidas pela aplicação direta de voltagem no capilar (2-5 kV), (ii) a liberação dos íons a partir das gotículas e, (iii) o transporte dos íons da

região de pressão atmosférica da fonte de ionização para a região de alto vácuo do analisador de massas¹⁰⁷.

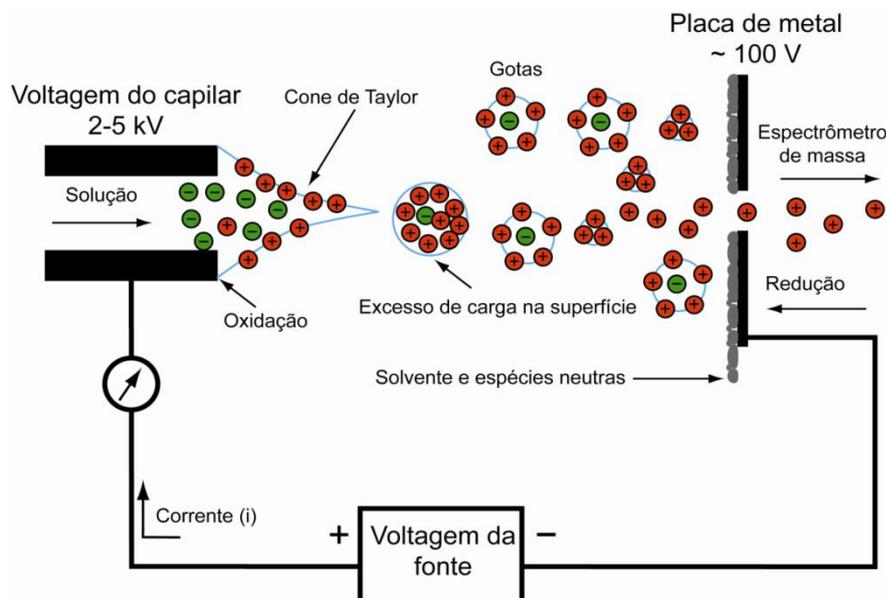


Figura 25 Esquema do processo de ionização por ESI.

Fonte: ROMÃO, 2010

1.6.2- Espectrometria de massas de Ressonância Ciclotrônica de Íons por Transformada de Fourier (FT-ICR MS)

É considerado, atualmente, o analisador de massas mais complexo. Desenvolvido na década de 1970, possui altíssimo poder de resolução e exatidão em massas¹⁰⁷, garantindo a determinação da fórmula química dos íons produzidos de forma exata. Se adapta aos mais diferentes tipos de fontes de ionização, e possui a capacidade de análises do tipo $(MS)^n$ para determinar a estrutura molecular¹⁰⁷.

Um íon produzido na fonte de ionização encontra-se sujeito a duas forças: F e F' , onde F é a equação referente à força eletromagnética (**equação 3**) e F' representa a equação do movimento circular uniforme (**equação 4**); quando está na presença de um campo magnético B , se movendo em caminho linear com velocidade igual a V_0 , de acordo com as equações 3 e 4:

$$F = qvB \quad (3)$$

$$F' = mv^2/r \quad (4)$$

Os símbolos m , q , v e r são a massa, carga, velocidade e o raio da trajetória circular do íon, respectivamente, e B o campo magnético uniforme. O equilíbrio entre as duas forças F e F' , resultam na estabilização da trajetória do íon. Sabendo que um íon completa uma trajetória circular de $2\pi r$ em uma determinada frequência dada por

$$f = v/2\pi r \quad (5)$$

e ainda, assumindo a equação da velocidade angular como

$$\omega = 2\pi f \quad (6)$$

Igualando as equações (3) e (4), obtêm-se a velocidade do íon:

$$F = F' \rightarrow qvB = \frac{mv^2}{r} \rightarrow v = \frac{qBr}{m} \quad (7)$$

- substituindo (5) em (6), e depois (7) em (6), conclui-se que:

$$\omega = \frac{2\pi v}{2\pi r} \rightarrow \omega = \frac{v}{r} \rightarrow \omega = \frac{qBr}{rm} \rightarrow \omega_c = \frac{qB}{m} \quad (8)$$

onde, ω_c é a frequência ciclotrônica^{107 108 108}.

As partículas carregadas em um campo magnético bastante intenso passam a assumir um movimento circular com uma determinada frequência, a qual é proporcional a sua razão m/z . Este é o princípio fundamental da Espectrometria de

massas de Ressonância Ciclotrônica de Íons por Transformada de Fourier (FT-ICR MS)¹⁰⁹. Todos os íons com a mesma relação m/z têm a mesma ω_c . Quanto menor for a ω_c , menor será a aquisição dos dados por FT-ICR MS. Este fator beneficia o acoplamento com a fonte ESI, possibilitando que os íons possam formar cargas múltiplas. Quanto menor a presença de uma molécula com carga múltipla, aumenta a frequência ciclotrônica alcançando excelente desempenho¹⁰⁸.

A **figura 26** mostra o funcionamento de um analisador de massas de altíssima resolução: o FT-ICR MS Solarix (Bruker, Bremen, Alemanha).

Os dados obtidos pela análise de MS foram classificados por DBE (do inglês: double bond equivalent - DBE). DBE é a medida da quantidade de anéis mais duplas ligações na molécula (equação 11), de tal forma que uma molécula com DBE 0, é completamente hidrogenada e a adição de uma ligação dupla ou um anel resulta na perda de dois átomos de hidrogênio.

$$DBE = C - H/2 + N/2 + 1 \quad (9)$$

onde, C, H e N são os números de átomos de carbono, hidrogênio e nitrogênio, respectivamente, em uma fórmula molecular¹⁰⁷.

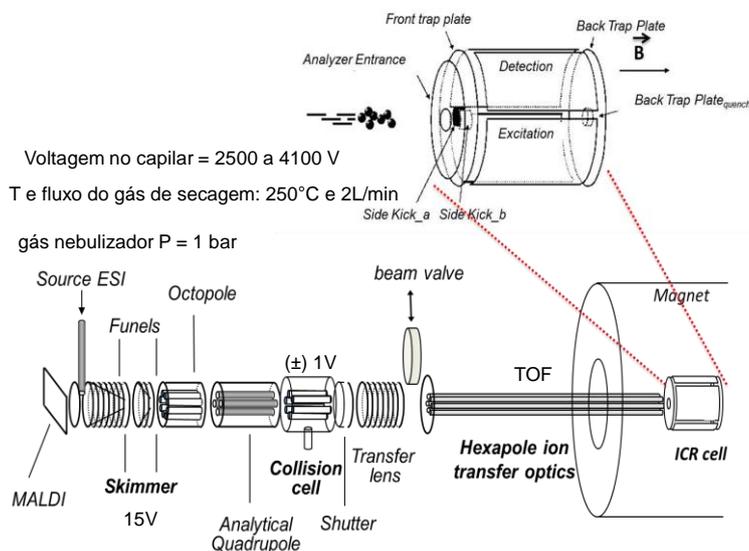


Figura 26 Esquema do arranjo interno do FT-ICR MS.

Fonte: <http://www.labpetro.org/petroleomica/> Acesso em 12 de abril de 2013

Os analisadores do tipo FT-ICR MS são capazes de armazenar os íons dentro de uma cela de ICR ou penning trap (presença de um campo magnético). A cela de

ICR é responsável pelo aprisionamento, excitação e detecção dos íons, localizada no centro de um magneto supercondutor¹⁰⁹.

Os íons, ao entrarem na cela de ICR, não são imediatamente observados, devido a um movimento ciclotrônico incoerente e de pequeno raio, por isso não detectável. Por este fato, eles são submetidos a um sinal elétrico de radiofrequência (rf) aplicado aos pratos de excitação, com a mesma frequência ciclotrônica do íon, os quais possuem uma maior órbita com a mesma frequência ciclotrônica do íon. Essa energia, ao ser transferida para o íon, aumenta a sua energia cinética e, conseqüentemente, o seu raio, até que os íons possam circular próximos aos pratos de detecção; logo, será induzida sobre estes uma pequena corrente¹⁰⁹. O sinal de ICR (domínio de tempo) é resultante da corrente oriunda da indução (detecção) de uma imagem oscilante de uma carga, ao se aproximar dos dois eletrodos condutores, opostos paralelamente^{110 111}.

1.7 Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas

A cromatografia pode ser combinada a diferentes sistemas de detecção, tratando-se de uma das técnicas analíticas mais utilizadas e de melhor desempenho¹¹².

A combinação das técnicas de cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massas, fora sugerida na década de 1950 por Roland Gohlke McLafferty e Fred. São compatíveis em muitos aspectos. Em ambas as técnicas a amostra está na fase de vapor, e necessita apenas de pequenas quantidades, normalmente abaixo de 1ng¹¹². O acoplamento de um cromatógrafo com o espectrômetro de massas, combina a alta seletividade e eficiência de separação da cromatografia, com a obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade do espectrômetro de massas¹¹¹.

É possível conectar a saída da coluna diretamente à fonte do espectrômetro, quando são utilizadas colunas capilares em CG, uma vez que em condições normais de operação, o sistema de bombeamento do espectrômetro de massas é capaz de captar todo o eluente da coluna¹¹³.

Enquanto a cromatografia gasosa separa os componentes de uma mistura, a espectrometria de massas irá caracterizar cada um dos componentes individualmente. Combinando essas duas técnicas, é possível ter tanto uma análise qualitativa como quantitativa, e avaliar uma amostra contendo uma série de produtos químicos. Na cromatografia gasosa, a fase móvel é um gás transportador e, normalmente, um gás inerte, como o hélio, por exemplo, ou não reativo, como o nitrogênio. Já a fase estacionária é uma camada microscópica de líquido, ou polímero sobre um sólido inerte, dentro de uma peça tubular de vidro ou metal denominada coluna¹¹⁴.

A figura 27 mostra a foto do CG-MS do NCQP-UFES, equipamento utilizado neste trabalho.



Figura 27 Foto do CG-MS NCQP - UFES

Fonte: <http://www.labpetro.org/cromatografia/>. Acesso em 20 de abril de 2013

1.8 Quimiometria e Estatística

A análise multivariada têm sido de grande utilidade para planejar e/ou selecionar procedimentos experimentais, extrair através da análise de dados químicos experimentais o máximo possível de informações relevantes e, sobre os sistemas químicos estudados, obter conhecimento¹¹⁵. Informações químicas obtidas a partir de espectros de FT-ICR MS, podem ser digitalizadas, formando uma série de números que podem ser representados por vetores e matrizes. Neste trabalho, foi realizada uma análise de PCA (Análise de Componentes Principais), cuja proposta é expressar as informações mais significativas, presentes nas variáveis originais em um pequeno número de novas variáveis, chamadas de componentes principais¹¹⁶. A Análise dos Componentes Principais (PCA), é considerada por muitos como o método que mais significativamente muda o ponto de vista dos químicos para análise multivariada dos dados¹¹⁷.

$$\begin{array}{c} J \\ \hline \hat{\mathbf{X}} \\ \hline I \end{array} = \begin{array}{c} h \\ \hline \mathbf{T} \\ \hline I \end{array} \times \begin{array}{c} \\ \hline \mathbf{P}^t \\ \hline J \end{array}$$

Figura 28 Representação matricial da análise dos componentes principais.

Fonte: R.F. Teófilo, Métodos Quimiométricos: Uma Visão Geral - Conceitos básicos de quimiometria, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Vol. 1, 2013.

A matriz T, de escores (contém as coordenadas das amostras nos eixos das componentes) o número de linhas é igual ao número de linhas da matriz original, usualmente o número de amostras. O número de colunas é igual ao número h de componentes significativos nos dados. O número de componentes significativos é comumente definido como a dimensionalidade intrínseca dos dados ou posto químico da matriz original. Na matriz P^t, de loadings, o número de colunas é igual ao número de colunas na matriz original, usualmente o número de variáveis. O número de linhas corresponde ao número de componentes principais h. A contribuição de cada eixo original para uma componente principal é o cosseno do ângulo entre o eixo da variável com o eixo da componente. Se uma componente principal aponta exatamente na mesma direção de uma variável individual, o ângulo entre elas é

zero, e o cosseno é 1. Logo, esta componente vai descrever toda a variação no eixo daquela. Da mesma forma, se uma componente é perpendicular (90°) ao eixo de uma determinada variável, o cosseno é zero, indicando que esta variável não fornece nenhuma contribuição à componente em questão. Os valores destes cossenos são os loadings e variam na faixa de -1 a 1 **ver figura 29** ¹¹⁹.

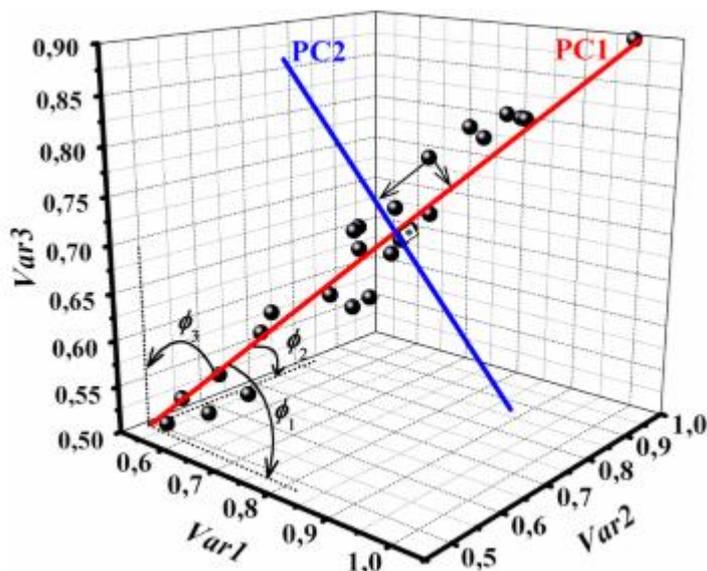


Figura 29 Representação geométrica de duas componentes principais em um espaço com três variáveis (3D).

Fonte: R.F. Teófilo, Métodos Quimiométricos: Uma Visão Geral - Conceitos básicos de quimiometria, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Vol. 1, 2013.

De acordo com a figura 29, a direção da PC1 vai descrever o espalhamento máximo das amostras (linhas). É o melhor ajuste da reta no espaço multidimensional. A PC2 é perpendicular à PC1, porque ela captura a variância comum em sua direção e em menor quantidade. As PCs são calculadas em ordem decrescente de significância. Usando informações da diagonal da matriz D, pode-se calcular a percentagem da variação ¹¹⁹.

1.9- Teste Colorimétrico

Para validar um método, faz-se necessária a aplicação de parâmetros, como a Especificidade/Seletividade e Sensibilidade (Limite de Detecção), as quais estão relacionadas à detecção. A Especificidade refere-se ao método Salt Fast Blue B para um único analito (maconha), e a Seletividade refere-se a um método utilizado para

vários analitos com capacidade de distinção entre eles. A menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada, é o seu limite de detecção (Sensibilidade). Porém, não necessariamente quantificada. No caso de métodos não instrumentais, como o teste colorimétrico, a determinação foi feita visualmente, onde o limite foi o menor valor de concentração capaz de produzir o efeito esperado¹¹⁸. A Sensibilidade vai dizer em que extensão a resposta varia, como função de sua concentração; logo, a Sensibilidade é expressa em sinal/concentração^{119 120 121}. (TEÓFILO, 2013)

No teste colorimétrico Salt Fast Blue B, através da verificação de coloração rósea, é confirmada a presença de cannabinóides. O teste é simples e rápido, e é utilizado pela Polícia Civil do Estado do Espírito Santo, juntamente com cromatografia em camada delgada e análise morfológica da planta. Uma pequena quantidade de amostra de maconha, extraída com solvente, colocada sobre um papel de filtro e a adição do sal Salt Fast Blue B, com pequena quantidade de NaOH.

Para as respostas positivo e negativo pode-se obter erros de precisão, ou mesmo de interpretação errada. Quando o resultado for positivo, a amostra pode conter cannabinóides (Verdadeiro positivo – VP), ou pode não conter cannabinóides (Falso Positivo – FP), como o caso da Carobinha – *Jacaranda decurrens cham.* e Guaraná – *Paulinia cupana kunth*¹²¹. Quando o resultado for negativo, a amostra pode não conter cannabinóides (Verdadeiro Negativo – VN), como pode tê-lo (Falso negativo – FN).

Tabela 4 Relação de Sensibilidade e Especificidade

RESULTADOS	Cannabinóides	
	Presente	Ausente
Positivo	VP	FP
Negativo	VN	FN

Fonte: TEÓFILO R. F., 2013

A sensibilidade é a fração das amostras que obtiveram resultado positivo no teste entre os que apresentam cannabinóides. Ela mede a capacidade do teste em identificar, corretamente, a presença de cannabinóides entre as amostras que o possuem¹²⁰.

Para a determinação da sensibilidade **s**, especificidade **e**, valor preditivo positivo **VPP**, e valor preditivo negativo **VPN**, foram utilizadas as seguintes equações:

(Sensibilidade)

$$s = \left[\frac{VP}{VP+FN} \right] \times 100 \quad (10)$$

Número de amostras de maconha que contém cannabinóides e com teste positivo / número total de amostras

(Especificidade)

$$e = \left[\frac{VN}{(VN+FP)} \right] \times 100 \quad (11)$$

Probabilidade de uma amostra de maconha analisada conter cannabinóides

(Valor preditivo positivo)

$$VPP = \left[\frac{VP}{(VP+FP)} \right] \times 100 \quad (12)$$

É a probabilidade de uma amostra de maconha com resultado positivo ser realmente maconha, e apresentar cannabinóides.

(Valor preditivo negativo)

$$VPN = \left[\frac{VN}{(VN+FN)} \right] \times 100 \quad (13)$$

É a probabilidade de uma amostra de maconha com resultado negativo ser realmente maconha¹²².

2. OBJETIVOS

2.1- Objetivos gerais

- Estudo de amostras de maconha apreendidas pela Polícia Civil do Estado do Espírito Santo, por meio da técnica de ionização por eletrospray, acoplada a um analisador FT-ICR MS (ESI(±) FT-ICR MS) de altíssima resolução e exatidão.

2.2- Objetivos específicos

- Determinar o perfil químico de amostras de: 1) maconha prensada, 2) haxixe, 3) semente, 4) caule, 5) folha e 6) flor da planta *Cannabis sativa* L, apreendidas no Estado do Espírito Santo por ESI(±) FT-ICR MS.

- Identificar a fórmula molecular e propor estruturas químicas para os principais cannabinóides e adulterantes, presentes em amostras de maconha e partes da planta.

- Testar a especificidade do teste colorimétrico Salt Fast Blue B, método de identificação utilizado pela Polícia Técnica do Estado do Espírito Santo.

- Correlacionar os dados espectrais obtidos por ESI (±) FT-ICR MS através de análise de PCA.

3. METODOLOGIA

3.1 Amostras

O Estado do Espírito Santo foi dividido em quatro grandes áreas: Sul, Grande Vitória, Norte e Noroeste. As amostras foram escolhidas de forma aleatória, de acordo com os laudos de apreensão da Polícia Civil. Foram separadas amostras de 43 apreensões de maconha prensada, no laboratório da Polícia Técnica do Estado do Espírito Santo. Adicionalmente, foram analisadas amostras de diferentes partes da planta: folha (3), caule (1), flor (1), sementes (30) e 3 amostras de haxixe. As amostras foram encaminhadas até o Laboratório de Petroléomica e Química Forense do NCQP (Núcleo de Competências Químicas em Petróleo) por Agentes da Polícia Civil do Estado do Espírito Santo.

3.2 Escolha do Solvente e Preparo da amostra

Uma metodologia simples e rápida no preparo da solução, via extração por dissolução e agitação. Três solventes foram testados na extração: acetonitrila (ACN), metanol, e uma mistura de metanol e diclorometano (1:1 em volume). No final, foi adicionado ao solvente ácido fórmico para experimentos de ESI (+) e hidróxido de amônio, para experimentos no modo ESI (-) a 0,1 %. O tempo de extração por dissolução foi de 1 hora e 5 minutos em agitação por vortex.

Em geral, 43 amostras foram pesadas (\cong 2 mg), utilizando uma balança analítica SHIMADZU, modelo AX200 e condicionadas em microtubos (ependorfs) distintos. A solução final foi levada ao agitador Vortex Mixer, e ficou sob agitação durante 5 minutos para aumentar a eficiência do procedimento de extração. Em seguida as soluções foram centrifugadas.

As amostras foram posteriormente analisadas por infusão direta em uma fonte de ESI(\pm) em um FT-ICR MS modelo 9,4 T SOLARIX, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha. A **Figura 30** mostra equipamentos e materiais utilizados na análise das partes da planta *Cannabis sativa* L.



Figura 30 Extração com solvente de amostras de semente, folha e haxixe em microtubos (ependorfes). Vortex Mixer auxiliando na agitação para melhor extração. Fonte de eletrospray, em detalhe, nuvem de solvente acetonitrila. Aparelho de FT-ICR MS do Núcleo de Competências Químicas em Petróleo, localizado no Laboratório de Petroleômica e Química Forense, na Universidade Federal do Espírito Santo – UFES.

Fonte: Arquivo pessoal. Laboratório Petroleômica – NCQP-UFES. Março de 2013

3.3 Análise das partes das plantas

As partes da planta (semente, caule, folha e flor) e uma amostra de haxixe foram analisadas por ESI (-)-FT-ICR MS. Aproximadamente 15 mg de amostra foram dissolvidas em 1 mL de ACN e adicionado 0,1 % de NH_4OH , com intuito de verificar o íon em sua forma desprotonada. Posteriormente, a amostra foi diretamente infundida na fonte de ESI(-) e analisada via FT-ICR MS. O perfil químico obtido foi comparado com uma amostra de maconha.

3.4 ESI(±)-FT-ICR MS

Uma concentração de $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ da amostra foi preparada em uma solução de ACN, contendo 0, 1 % de ácido fórmico, para aquisição no modo ESI(+) e 0,1 % de NH_4OH para aquisição no modo ESI(-). A solução foi injetada na fonte de ESI a um fluxo de $5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. A faixa dinâmica de aquisição de íons na cela de ICR foi de m/z 200-2000. Os demais parâmetros da fonte de ESI são: **i)** voltagem no capilar

(cone): 2500-4100 V; **ii**) End Plate Offset = -500 V; **iii**) temperatura e fluxo do gás de secagem: 250°C e 2 L min⁻¹; **vi**) pressão do gás nebulizador: 1 bar; **v**) skimmer = 15 V e **vi**) collision voltage = (±) 1 V. Na transmissão de íons, o tempo de acumulação de íons no hexapolo (ion accumulation time) e o TOF foram de 0.02 s e 0.9 ms, respectivamente. Cada espectro foi adquirido a partir da acumulação de 32 scans com um domínio de tempo de 4M (mega-point). Antes da aquisição, o equipamento foi calibrado a partir de uma solução de NaTFA.

A **figura 31** mostra em detalhes o funcionamento desde a entrada da amostra por injeção direta na fonte de eletrospray, amostra com solvente, íon trap, cela de ICR até a aquisição dos espectros de massa. As imagens da figura 28 foram retiradas do vídeo www.youtube.com/watch?v=7EHngA4S3Ws, acessado em 08 de janeiro de 2013.

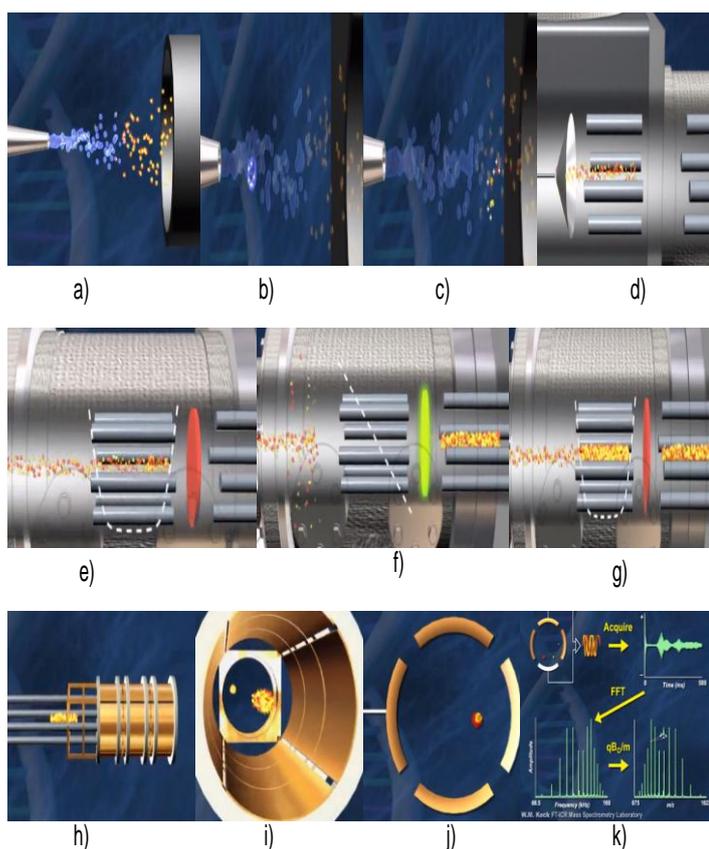


Figura 31 a) amostra nebulizada juntamente com solvente. b) gotas com excesso de carga na superfície. c) explosão coulômbica d) entrada para o analisador. e) cela de colisão. f) transferência de íons. g) skimmer fechado, aprisionamento de íons e entrada no hexapolo. h) tempo de voo – TOF (Time-of-flight). i) cela de ICR. j) movimento ciclôtrônico dos íons. k) aquisição de espectro de massas.

Fonte: www.youtube.com/watch?v=7EHngA4S3Ws, acessado em 08 de janeiro de 2013

3.5 ESI(±)FT-ICR MS/MS

Para os experimentos de MS/MS, a janela do quadrupolo foi fechada em um intervalo de 1 Da; ou seja, $m/z_{\text{selecionado}} \pm 1$, proporcionando o isolamento do íon de interesse. Posteriormente, o íon é conduzido para o interior de uma cela de colisão (hexapolo) com energia de colisão variando entre 3-20 V, sendo Argônio o gás de colisão utilizado. A fim de aumentar a quantidade de íons na cela ICR (analisador do FTMS), o tempo de acumulação de íons no hexapolo (ion accumulation time) foi aumentado de 0.02 para 1 s. Cada espectro foi adquirido a partir da acumulação de 32 scans com um domínio de tempo de 4M (mega-point).

3.6- Cromatografia Gasosas Acoplada à Espectrometria de Massas

Foram selecionadas 4 amostras de maconha (2mg/1mL éter de petróleo), e 2 amostras de haxixe, as quais foram extraídas por método Soxhlet, utilizando como solventes para extração, éter de petróleo e clorofórmio. A extração foi realizada em 4 horas, a uma temperatura de 60°C. Após secagem do solvente e concentração do extrato em rota-evaporador, foram dissolvidas em diclorometano (1mL) e injetadas no CG-MS, com temperatura de injeção de 250°C e a temperatura de interface de 280°C, o fluxo da coluna foi de 1,5mL/min, velocidade linear de 46,3cm/seg, no modo splitless e um fluxo total de 79,5mL/min. A temperatura de 140°C foi mantida por 2 min, depois a 200°C, 230°C e 3min a 310°C. A **figura 32** mostra a sequência de procedimentos para análise em CG-MS de uma amostra de haxixe.



Figura 32 Em sentido horário: Amostra de haxixe (apreensão realizada na região da Grande Vitória; Extração de haxixe em éter de petróleo por método Soxhlet; Rota-evaporador para concentração do extrato e recuperação do solvente; Cromatógrafo a gás (NCQP).
Fonte: Arquivo pessoal. Fotografadas no NCQP-UFES

3.7- Teste colorimétrico

Onze amostras de maconha foram selecionadas, juntamente com haxixe, sementes, caule, folha macerada, folha natural e flores. Foram medidas 2mg de cada amostra e colocadas em *ependorfes* diferentes. A cada frasco foram adicionados 1mL de éter de petróleo. Foram retiradas 100 μ L de alíquota do extrato e

adicionados a um papel de filtro, espaçado a 3cm de distância de cada amostra. Sobre a mancha de extrato foi adicionado 0,02g do sal Salt Fast Blue B (cloreto de di-o-anisidina tetrazolio) da marca Aldrich, e 100 μ L de NaOH 0,1M. O resultado positivo é verificado visivelmente por uma coloração rósea, indicando a presença de cannabinóides. A **figura 33** mostra o complexo formado sal-cannabinóide.

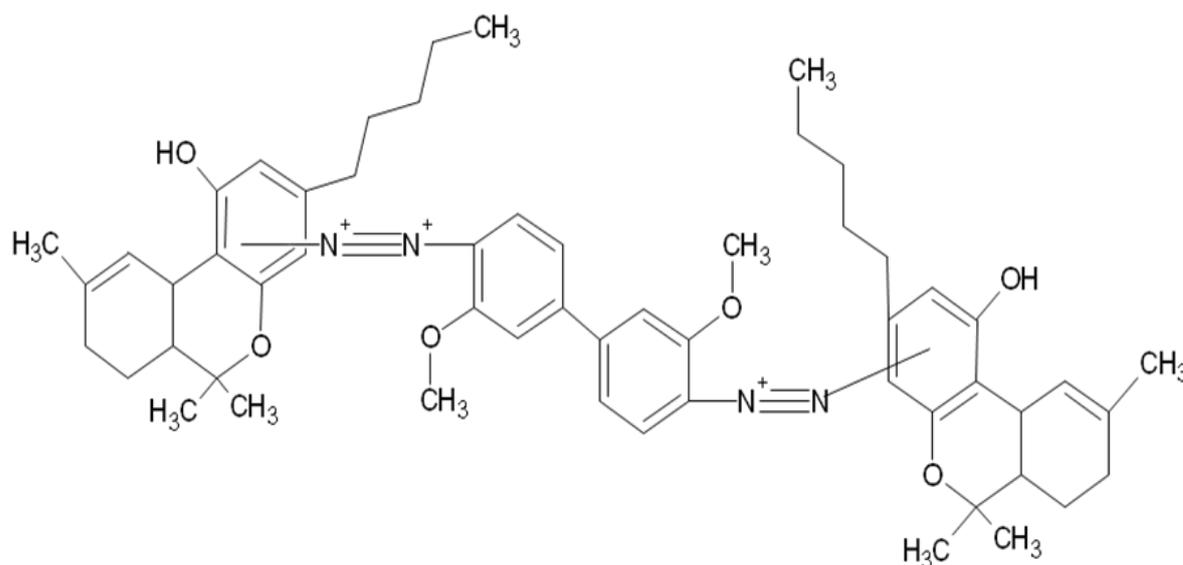


Figura 33 Complexo formado pelo sal Salt Fast Blue B e Cannabinóides

Fonte: Boldrin

3.8 Limite de detecção do teste colorimétrico

A partir de 2mg de amostra de maconha em 1mL de éter de petróleo, foram preparadas outras soluções através de diluição. 1mg/mL, 0,5mg/mL, 0,25mg/mL, 0,125mg/mL, 0,125mg/mL e 0,0625mg/mL. 100 μ L de extrato de cada amostra foram adicionados em papel de filtro com espaçamento de 3 cm. A pipeta foi calibrada a 21°C.

3.9 Estatística

3.9.1- Sensibilidade

A sensibilidade do teste colorimétrico foi calculada através da equação 10 (ver pág. 70), onde o número de amostras de maconha que contém cannabinóides e, com teste positivo, é dividido pelo número total de amostras (verdadeiro positivo + falso negativo).

3.9.2 Especificidade

A especificidade é medida utilizando-se a equação 11 (ver pág. 70). É calculada a probabilidade de uma amostra de maconha analisada conter cannabinóides.

3.10 Quimiometria

Todas as variáveis obtidas dos 86 espectros de ESI(\pm)-FT-ICR MS, um total de 43 amostras de maconha apreendidas, em diferentes cidades do Estado do Espírito Santo, foram submetidas a análise quimiométrica por meio da Análise dos Componentes Principais (PCA). O objetivo deste estudo foi de verificar se existe algum padrão de agrupamento entre as amostras apreendidas.

Os dados obtidos foram exportados e colocados em matrizes (colunas e linhas), utilizando Microsoft Office Excel 2007. Para o modo (+) foi construída uma matriz 43 x 802 e para o modo (-) 43 x 1269. Os dados foram normalizados e analisados pelo software PLS-Toolbox 4.02 Matlab v. 7.0.1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESI(+)-FT-ICR MS

As **Figuras 34a-c** mostram um espectro de ESI(+)-FT-ICR MS para uma amostra de maconha (extrato orgânico típico de maconha) em três diferentes solventes: **(a)** ACN, **(b)** metanol/DCM e **(c)** metanol. Em geral, uma maior quantidade de sinais (região de m/z de 300-800) é observado para o espectro de ESI(+)-FT-ICR MS obtido em ACN (**Figura 34a**), além dos principais ingredientes ativos (cannabinóides) Δ^9 -THC e CBN-C₅, os quais foram detectados como moléculas protonadas [THC + H]⁺ de m/z 315,2321 e [CBN-C₅ + H]⁺ de m/z 311,2008, correspondente a suas massas teóricas, respectivamente 315,2319 e 311,2006, detectando um erro abaixo de 1ppm. A precisão da massa foi medida através da equação 2 (pág. 62):

$$\text{Para } \Delta^9\text{-THC: } \frac{315,3221 - 315,2319}{315,2319} \times 10^6 = 0,63 \text{ ppm}$$

$$\text{Para CBN-C}_5\text{: } \frac{311,2008 - 311,2006}{311,2006} \times 10^6 = 0,64 \text{ ppm}$$

A medição de massa exata pode ser usada, portanto, para uma identificação mais segura de perfil químico de espécies cannabinóides, presentes em amostras de maconha.

A DBE de 7, para Δ^9 -THC e 9 para CBN-C₅, indica a presença de um anel aromático (DBE = 4), um anel furano (DBE = 1), e um cicloexeno (DBE = 2 para Δ^9 -THC) e ciclohex-1,3-dieno (DBE = 3 para CBN-C₅).

ACN (acetonitrila) foi, portanto, o solvente de trabalho escolhido para a extração de cannabinóides em amostras de maconha, haxixe e partes da planta *Cannabis*.

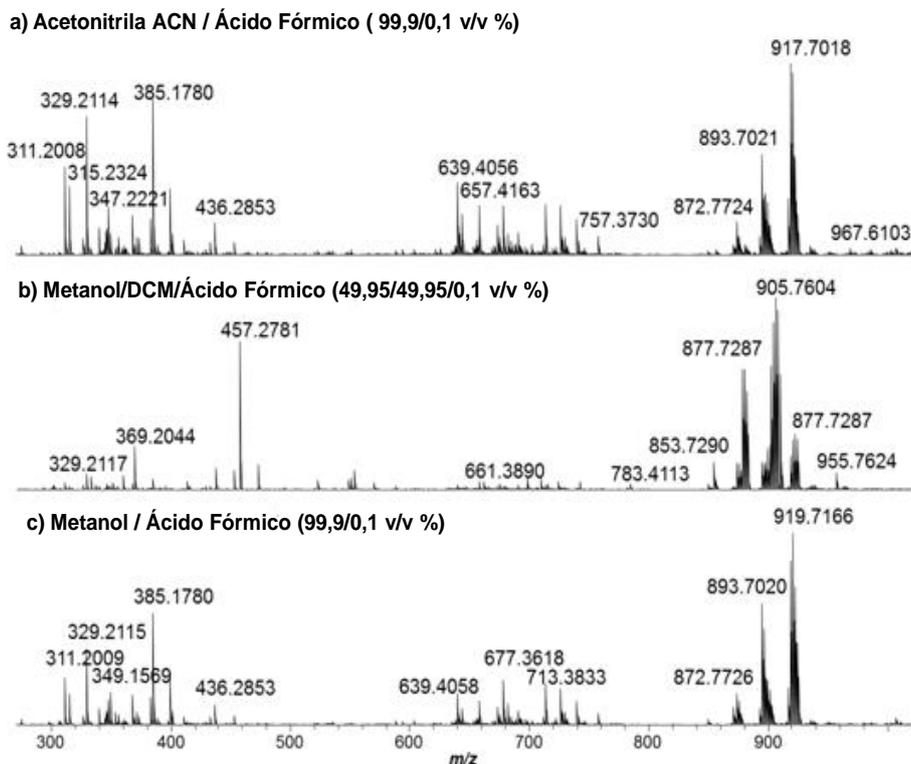


Figura 34 Um típico espectro de ESI(+)-FT-ICR MS para uma amostra de maconha dissolvida em (a) ACN, (b) Metanol/DCM e (c) metanol. Em todas as amostras foi adicionado ácido fórmico (0,1% em volume), com o intuito de protonar as moléculas, ESI (+).

As **Figuras 35a-d** mostram os espectros de ESI(+)-FT-ICR MS de quatro amostras de maconha apreendidas pela PC do ES. Um típico perfil químico é obtido, similar ao ESI(-), para as amostras A e D (**35a,d**), onde três conjuntos de íons são observados em regiões distintas do espectro: **i**) região de m/z 200-450, concentram-se os cannabinóides (Δ^9 -THC foi identificado como $[M + H]^+$: m/z 315, presentes em 27 amostras), ou polifenóis na forma de moléculas protonadas; **ii**) região de m/z 600 – 800 concentram-se dímeros e espécies nitrogenadas ou polifenóis; e **iii**) região de m/z 900 – 1200. Entretanto, esse perfil químico é facilmente afetado quando existe a presença de compostos com elevada basicidade, que são contaminantes externos que agem com o objetivo de mascarar o efeito ou aumentar o potencial psicotrópico da droga (**Figura 35b, c**). Entre os adulterantes presentes estão: cocaína ($[M + H]^+$: 304, presentes em 28 amostras); lidocaína ($[M + H]^+$: 235, presentes em 14 amostras, e um composto desconhecido com fórmula mínima de $C_{31}H_{42}N_2O_3$,

presentes na forma ($[M + H]^+$: 491, $[2M + H]^+$: 819 e ($[3M + H]^+$: 1147), cujo nome comercial até o momento não foi identificado.

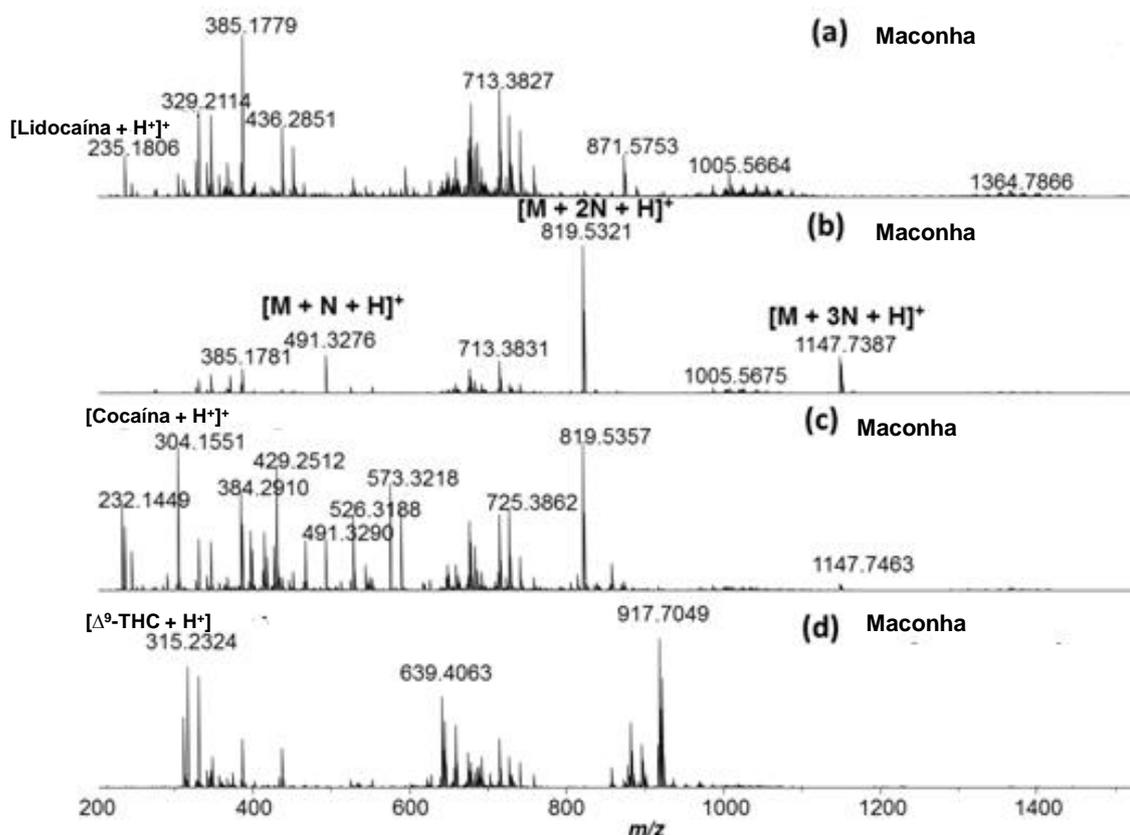


Figura 35 Espectros de ESI(+)-FT-ICR MS para quatro amostras de maconha nomeadas de **A**, **B**, **C** e **D**. Observe a presença de uma série de sinais típicos de canabinóides para as amostras A e D, na faixa de m/z de 200 a 400, como o psicotrópico THC $[M + H]^+$: 315 em destaque na amostra D. Entretanto, foram identificadas impurezas adicionadas à matriz da planta, como cocaína ($[M + H]^+$: 304) amostra C; lidocaína ($[M + H]^+$: 235) amostra A.

Em geral, as impressões digitais químicas típicas de moléculas cannabinóides são observadas para as amostras A (Figura 35A) e D (figura 35d), sendo detectadas em três regiões distintas m/z : 200-400; 600-800, e 800-1000. Elas correspondem aos monômeros, dímeros e trímeros identificados como $[M + H]^+$, $[2M + H]^+$ e $[3M + H]^+$, em que M corresponde a uma molécula de cannabinóide específico.

Entre as 43 amostras analisadas de maconha, o Δ^9 -THC foi confirmado por ESI (+)-FT-ICR MS em 27 amostras. A presença de adulteradores, tais como a cocaína (íon $[M + H]^+$ de m/z 304,1551, detectado em 28 amostras); a lidocaína (íon $[M + H]^+$ de m/z 235,1806, detectada em 14 amostras, além dos íons de m/z 491,3276, 819,5321 e 1147,7387 presentes em 25 amostras. Estes adulterantes

somados à maconha podem suprimir a ionização química de moléculas cannabinóides que apresentam menor basicidade (menores valores de pKa). Isto pode, portanto, fornecer resultados negativos ou falso positivos para a molécula Δ^9 -THC. Note que esta abordagem não leva a resultados quantitativos devido a diferenças inerentes e grandes na eficiência de ionização entre espécies com heteroátomos, mas permite a comparação adequada e avaliações qualitativas dos resultados.

Compostos nitrogenados como a cocaína são bases de Lewis; logo, são facilmente protonadas durante o processo de ionização pela fonte ESI(+). Estes contaminantes/adulterantes (cocaína, lidocaína), podem ter sido adicionados propositalmente para aumento do efeito euforizante, ou simplesmente contaminado, devido a forma de prensagem ou embalagem serem realizadas no mesmo ambiente e pelos mesmos indivíduos que preparam ou embalam a cocaína. Interessante ressaltar que no modo (+) não foi detectado o íon $([M + H]^+; 359)$, Δ^9 -THCA (ácido tetrahydrocannabinólico) precursor do Δ^9 -THC.

A **figura 36** mostra em destaque o íon $[M + H]^+; 315$ Δ^9 -THC

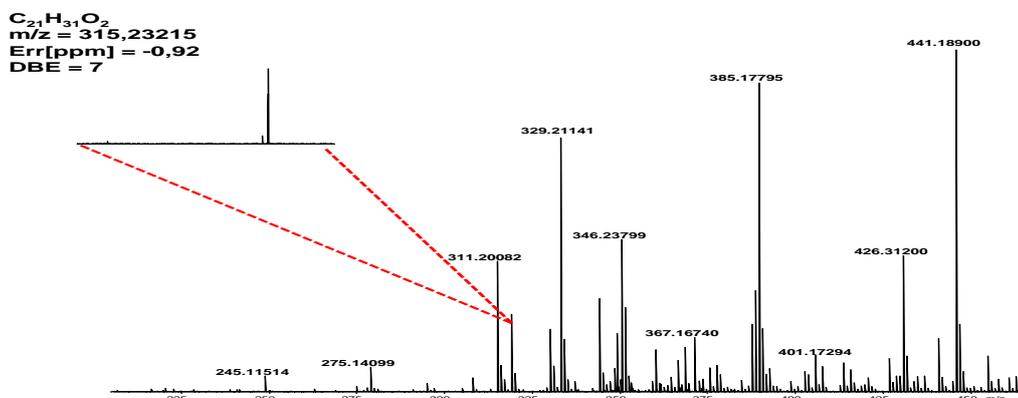


Figura 36 ESI(+)-FT-ICR MS mostrando em destaque o sinal do íon $([M + H]^+; 315)$ Δ^9 -THC. O sinal $([M + H]^+; 311)$ refere-se aos cannabinóides: Cannabinol CBN- C_5 , Cannabinodiol CBND- C_5 e Cannabifuran CBF- C_5 , ambos apresentam a mesma relação m/z e a mesma DBE, **ver tabela 4**.

Os íons de m/z 491, 819 e 1147 correspondem a adulterantes ainda não relatados na literatura a partir de dados FT-ICR MS. ESI (+) -FT- ICR MS que fornecem peso molecular, DBE e precisão da massa de íons de m/z 491, 819 e 1.147 correspondentes a $C_{31}H_{42}N_2O_3$ (DBE = 5 e erro = -1,6 ppm) , $C_{52}H_{70}N_2O_6$ (DBE = 19 e erro = -2,4 ppm) e $C_{73}H_{98}N_2O_9$ (DBE = 26 e erro = -3,9 ppm) , respectivamente , mostradas na Figura 37a- c .

4.1.1- ESI(+)-FT-ICR MS/MS

Para confirmar as estruturas e a conectividade de novo adulterador presente nas amostras de maconha, espectros ESI(+)-MS/MS foram adquiridos com os íons $[C_{31}H_{42}N_2O_3 + H]^+$, $[C_{52}H_{70}N_2O_6 + H]^+$ e $[C_{73}H_{98}N_2O_9 + H]^+$ de m/z 491, 819 e 1147 (figura 41a - c). Esta abordagem identificou a perda de característica e confirmou a existência de moléculas de nicotina ($M = C_{10}H_{14}N_2$ e $DBE = 5$) como adulterante, sendo quimicamente atacada a OTHC- 5 molécula ($N = C_{21}H_{28}O_3$ e $DBE = 7$) Figura 37.

Inicialmente a **figura 37a** mostra o experimento CID (*collision-induced dissociation*) do íon $[C_{31}H_{42}N_2O_3 + H]^+$ de m/z 491 e produz fragmentos com m/z 329, 311, 287 e 271, em que o íon 491 se fragmenta e forma o 329, e de 329 para 311. Esta fragmentação corresponde a perda neutra de 162 Da (nicotina) e 18 da (H_2O), respectivamente. A série de sinais observados com m/z menor do que 329 (311, 287 e 271) são atribuídos à fragmentação OTHC. Além disso, a ESI(+) MS/MS do íon $[C_{52}H_{70}N_2O_6 + H]^+$ de m/z 819, **Figura 37b**, produz fragmentos principais de m/z 419 e 329 através de perdas neutras de 328Da e 162Da, correspondentes para OTHC e moléculas de nicotina, respectivamente. Portanto, o íon $[C_{52}H_{70}N_2O_6 + H]^+$ de m/z 819 corresponde ao dímero de OTHC ligado com uma molécula de nicotina, sendo também expresso como $[M + 2N + H]^+$, onde $M = C_{21}H_{28}O_3$ e $N = C_{10}H_{14}N_2$. Finalmente, para o espectro de ESI(+) MS/MS do íon $[C_{73}H_{98}N_2O_9 + H]^+$ de m/z 1147, um padrão de fragmentação semelhante é também observado, o que confirma a presença de um trímero de OTHC mais uma molécula de nicotina¹²² (**ver figura 37c**), onde são identificadas duas perdas neutras de 328Da (1147 - 819 e 819 - 491) e um de 162 Da (491 - 329).

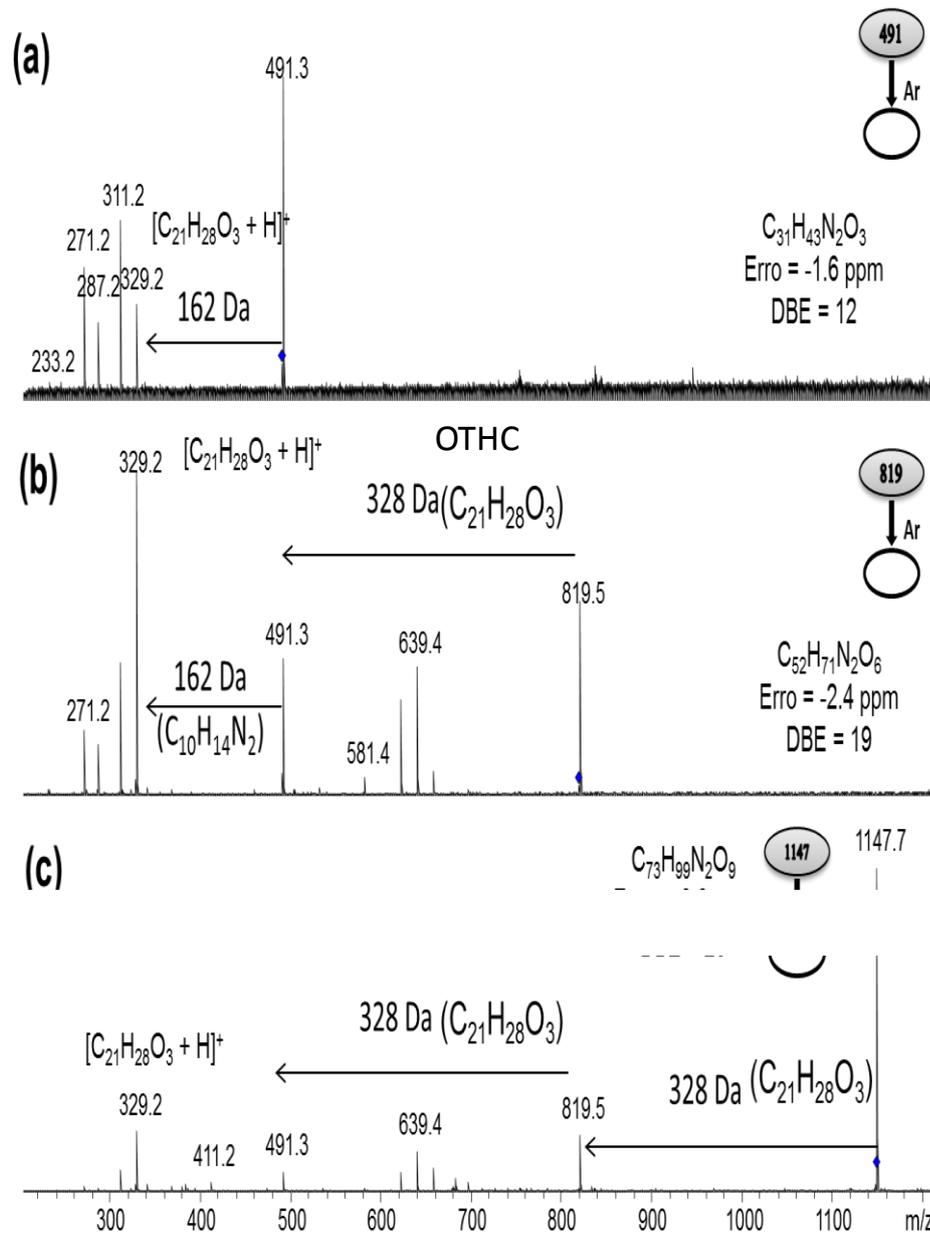


Figura 37. Espectros de ESI(+)-FT-ICR MS para os íons 491 (36a), 819 (36b) e 1147(36c).

Proposta de fragmentação para o complexo OTHC-Nicotina $[M + N + H]^+$ 491Da é apresentada na figura 38.

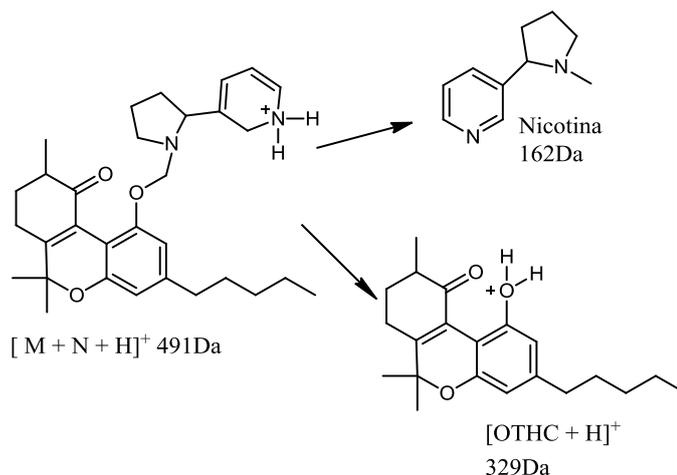


Figura 38 Proposta de fragmentação para o íon 491.

Os espectros ESI(+)-FT-ICR MS/MS para os íons 315, 326, 329, 340, 356 e 367 são apresentados na **figura 39**. A fragmentação do íon 315 mostra a perda neutra de 56 Da ($315 \rightarrow 259$) e 84 Da, de acordo com BROECKER & PRAGST, 2012, as substâncias isoméricas Δ^9 -THC e CBD-C₅ (cannabidiol) analisadas por cromatografia em fase líquida acoplada a espectrometria de massas (LC/MS/MS) utilizando como fonte de ionização ESI(+), são medidas as mesmas transições ($315 \rightarrow 259$), utilizando padrões dos mesmos, e sendo protonados por H², dificultando a identificação. Uma proposta de fragmentação é mostrada na **figura 40**.

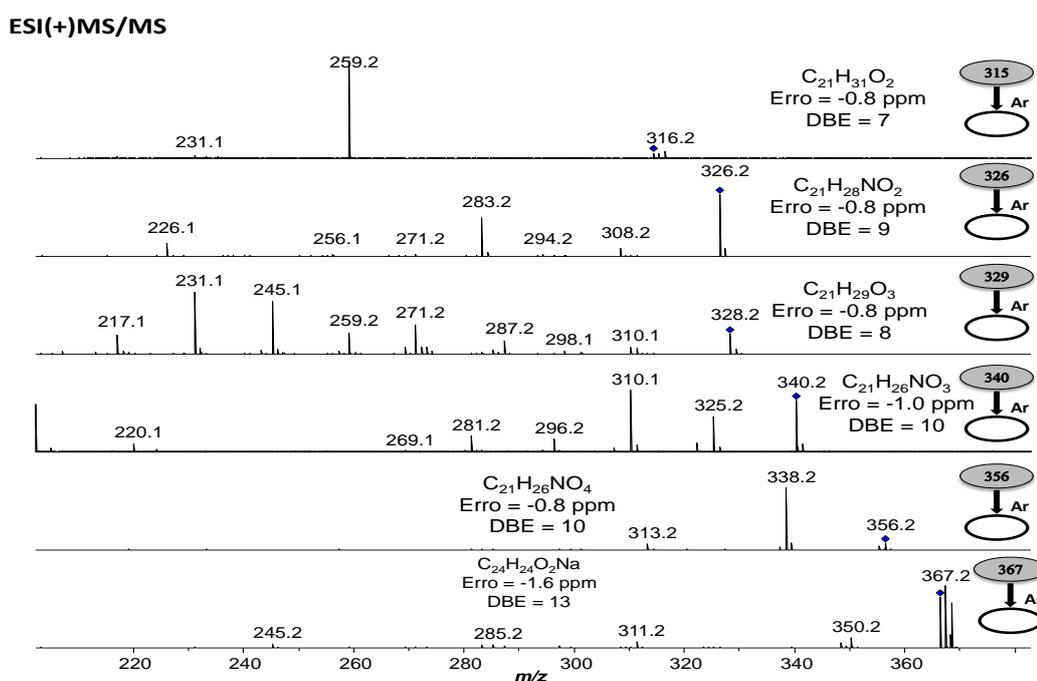


Figura 39 Espectros ESI(+)-FT-ICR MS/MS 315, 326, 329, 340, 356 e 367

O intenso sinal m/z 259 é explicado pela clivagem da cadeia lateral (grupo pentila) com perda neutra de C_4H_8 (buteno), 56 Da.

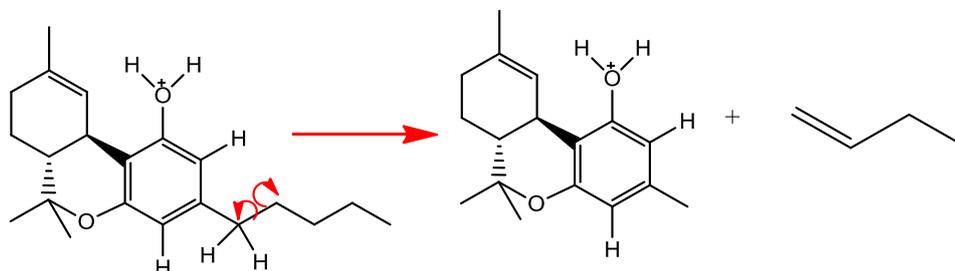


Figura 40 Fragmentação do íon 315 com perda neutra de 56 Da (C_4H_8)

De acordo com JUNG, J., et al. (09 de JULHO de 2009), espectros de ESI(+) MS/MS para o íon 315 dos padrões $\text{trans-}\Delta^9\text{-THC}$ e CBD, não apresentam a formação de moléculas protonadas diferentes, e são obtidos os mesmos sinais para ambos os cannabinóides. Portanto, não é viável querer identificar a substância psicotrópica $\text{trans-}\Delta^9\text{-THC}$ por ESI(+)-FT-ICR MS/MS, visto que os sinais 259 e 231 aparecem para ambos os cannabinóides isômeros¹²³.

4.2 ESI(-)-FT-ICR MS

Os cannabinóides possuem como estrutura básica a presença de grupos fenólicos, sendo a fonte de ESI(-) a melhor explorada nesse trabalho. Os grupos fenólicos devido a sua acidez são facilmente desprotonados; logo, os cannabinóides formarão íons negativos, identificados por ESI (-).

Inicialmente, ela foi usada para estudar a presença dos cannabinóides em partes de planta (folha e semente), além do haxixe e da maconha prensada, **Figura 41a-d**.

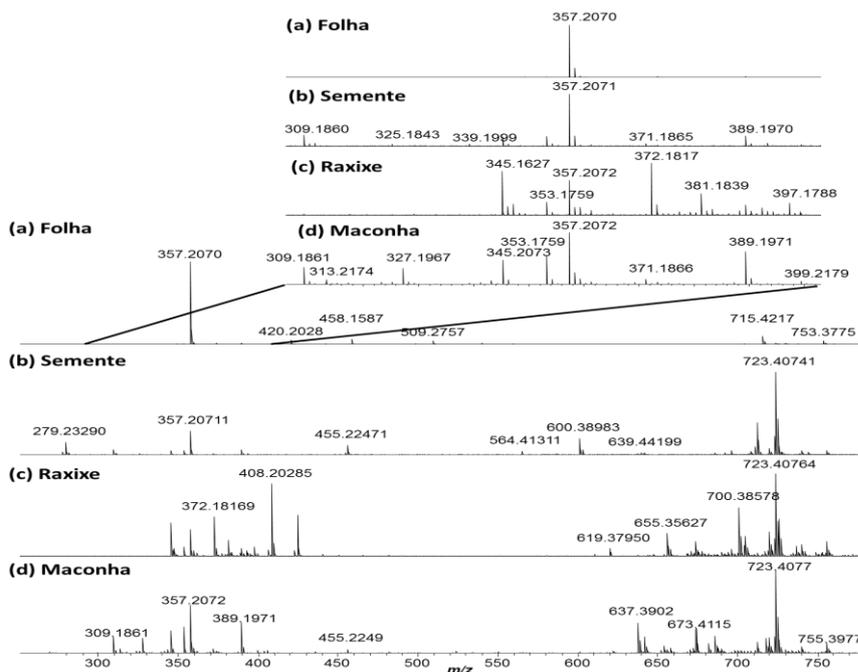


Figura 41 Espectros de ESI(-)-FT-ICR MS a) folha, b) semente, c) haxixe e d) maconha. Uma expansão na região de m/z de 300-400 Da mostra os principais canabinóides detectados na forma de $[M-H]^-$ (309, 313, 327, 345, 353, 357, 389 e 399) e dímeros de $[M+N-H]^-$: 637, 653, 673, 681, 685 e 717. A fórmula mínima, m/z medido e teórico, erro de massa e valores de DBE são mostrados na **tabela 5**. Entre os íons detectados, pode-se destacar a presença do íon m/z $[M-H]^-$: 357 ácido tetrahydrocannabinólico.

Íons correspondentes à classe CHO foram detectados na região de m/z de 200-800, e uma expansão na região de m/z de 300-400 mostra os principais cannabinóides na forma de $[M-H]^-$ (309, 313, 327, 345, 353, 357, 389 e 399), e dímeros de $[M+N-H]^-$: 637, 653, 673, 681, 685 e 717. A fórmula mínima, m/z medido e teórico, erro de massa em valores de DBE são mostrados na **Tabela 5** (pág. 91). Entre os íons detectados pode-se destacar a presença do íon m/z 357, referente ao ácido tetrahydrocannabinólico. O íon $[M-H]^-$: 313 (Δ^9 -THC) é verificado apenas na expansão na região de m/z 300 – 400, devido a baixa intensidade do sinal.

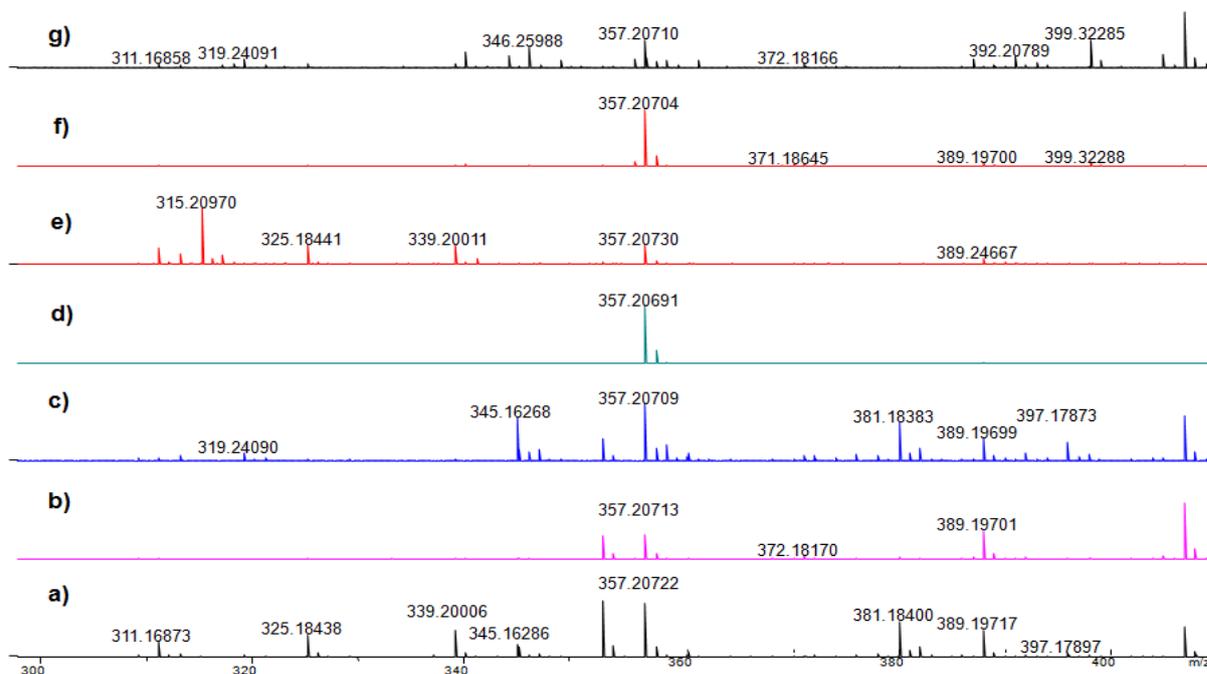


Figura 42 Espectros de ESI(-)-FT-ICR MS a) maconha, b) maconha, c) haxixe, d) inflorescência feminina, e) semente, f) folha e g) caule. Expansão de m/z 300 a 400Da.

O espectro ESI(-)-FT-ICR MS da amostra de inflorescência feminina também não apresentou o íon 313 (Δ^9 -THC), o que era esperado, por ser a parte da planta onde se encontra o maior teor desta substância. Porém, o íon $[M-H]^-$: 357 THCA, ácido tetrahidrocannabinólico, aparece praticamente sozinho, sendo que, através desta observação, é possível comprovar o alto teor de THC presente na inflorescência feminina.

O THCA é o precursor do Δ^9 -THC, e a descarboxilação ocorre prontamente durante a queima do baseado, a uma temperatura de 125 a 150°C. Com o passar do tempo (envelhecimento da maconha), esta transformação ocorre naturalmente de forma lenta por fermentação, armazenamento e secagem da planta ou de maconha apreendida, se degradando em produtos secundários por aumento da temperatura, auto-oxidação e luz, ocorrendo isomerização do Δ^9 -THC (psicotrópico) a CBD-C₅ Cannabidiol (sedativo), além da oxidação a CBN (Cannabinol), o que apresenta 10% da psicoatividade do Δ^9 -THC; logo, o efeito final é mais relaxante devido a ação sedativa. A maior taxa de conversão de THCA em Δ^9 -THC¹²² já registrada é de 70%, obtida em condições analíticas e em temperatura superior a 140°C, enquanto que, na situação de fumo, a taxa de conversão foi de 30%, ou simplesmente com a

secagem da planta^{123 124 125}. Portanto, o íon 357 [Δ^9 -THCA - H]⁻ é o principal íon detectado em amostras de maconha prensada, partes da planta e haxixe.

A **figura 43** mostra um esquema da síntese de THC até a sua degradação em THC e CBD^{46 126 127}.

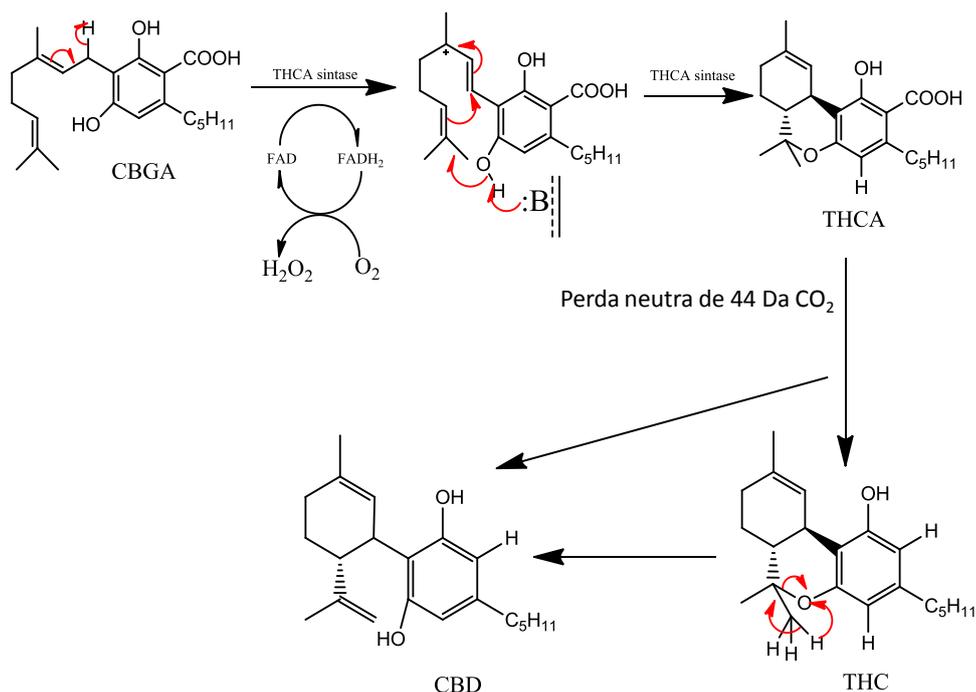


Figura 43 Esquema de síntese de THCA e sua degradação a THC e CBD.

A **figura 44** mostra os espectros ESI(-) FT-ICR MS obtido de cinco amostras de maconha. É possível verificar numa expansão m/z 300 a 360 Da a intensidade dos sinais referentes aos íons 309, 313 e 357.

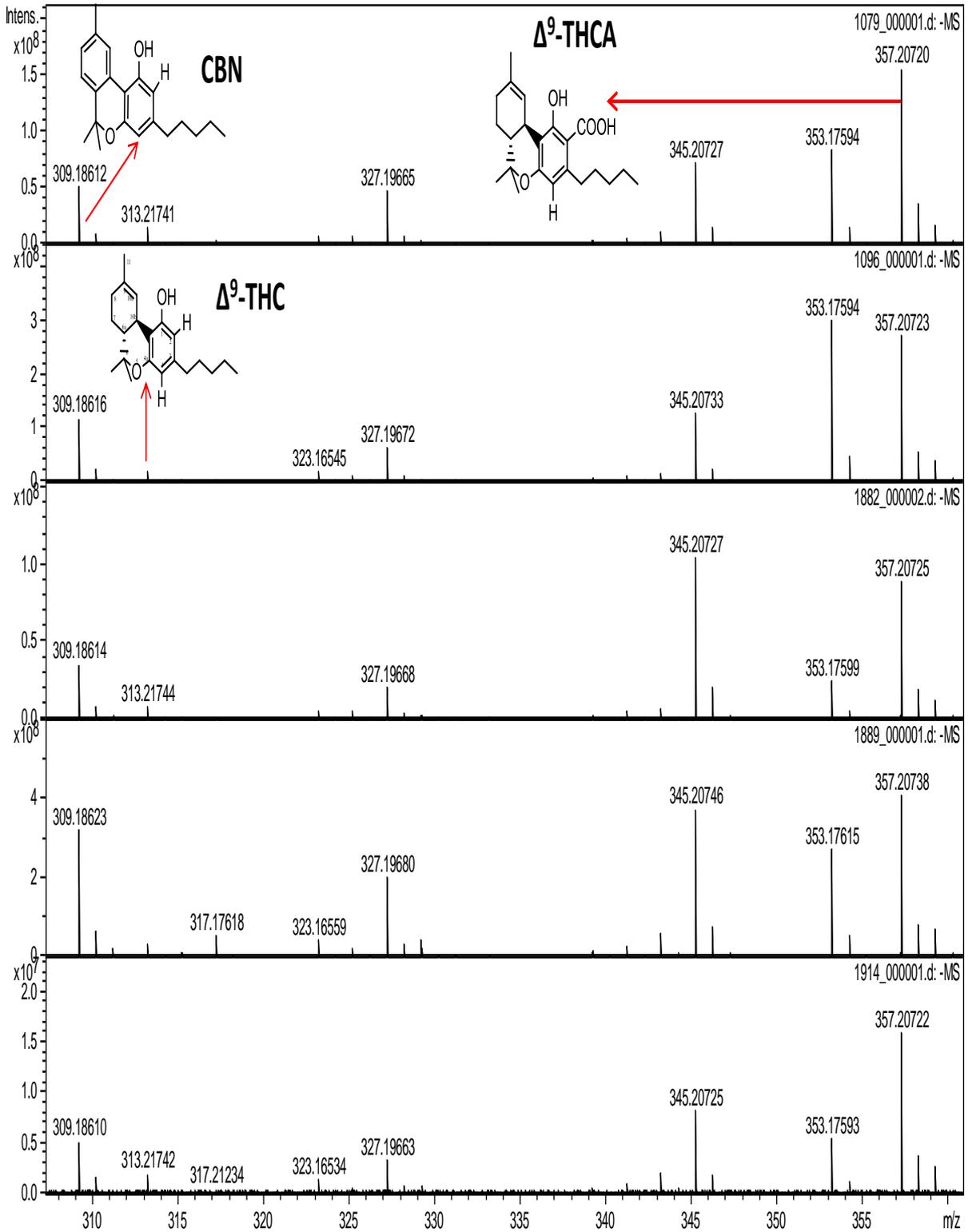


Figura 44 Relação entre a intensidade de sinais [M-H]⁻ 309, [M-H]⁻ 313 e [M-H]⁻ 357 de cinco amostras de maconha.

A intensidade do íon [M-H]⁻ 357 THCA está numa proporção de 15:1 em relação ao íon [M-H]⁻ 313 THC e de 3:1, e em relação ao íon [M-H]⁻ 309 CBN.

Fazendo uma analogia da relação utilizada na cromatografia gasosa, onde a concentração de THC, CBN e CBD é medida pela área do cromatograma, a intensidade do sinal representará a área. A concentração de THC será a intensidade de THCA, considerando que este ainda não se converteu em THC, e a concentração de CBD será a intensidade de THC, considerando que são isômeros e que é o último a ser formado através do THCA. Temos, conforme equação 1:

$$X = \frac{[\text{THC}] + [\text{CBN}]}{[\text{CBD}]}$$

$$X = 1,5 + 0,5 / 0,1 = 20$$

Esta amostra é considerada droga psicoativa.

Tabela 5 Informação detalhada dos principais cannabinóides detectados pelo espectro de ESI(-)-FT-ICR MS e MS/MS na forma de [M-H]⁻ e [M + N - H]⁻: *m/z* medido, *m/z* teórico, fórmula mínima, número de insaturações, DBE, erro de massas (ppm) e possíveis estruturas.

Formula	<i>m/z</i> _{exp}	<i>m/z</i> _{teórico}	Error (ppm)	DBE	Estruturas Propostas
[M - H] ⁻					
[C ₁₇ H ₂₂ O ₂ - H] ⁻	257.1548	257.1547	-0.26	7	CBD-C ₁ ou Δ ⁹ -THCO-C ₁
[C ₁₉ H ₂₂ O ₂ - H] ⁻	281.1548	281.1547	-0.42	9	CBN-C ₃ ou CBVD-C ₃
[C ₁₉ H ₂₆ O ₂ - H] ⁻	285.1861	285.1860	-0.47	7	CBE-C ₃ , CBDV-C ₃ , Δ ⁹ -THCV-C ₃ ou 2-metil-2-(4-metil-2-pentenil- 7-propil-2H-1-benzopiran-5-ol
[C ₂₀ H ₂₄ O ₂ - H] ⁻	295.1703	295.1703	0.11	9	CBN-C ₄
[C ₁₈ H ₂₂ O ₄ - H] ⁻	301.1450	301.1445	-0.48	8	Δ ⁹ -THCOA-C ₁ A or B
[C ₁₈ H ₂₄ O ₄ - H] ⁻	303.1607	303.1602	0.59	7	CBCN-C ₃
[C ₂₁ H ₂₄ O ₂ - H] ⁻	307.1707	307.1703	-0.90	10	DCBF-C ₅
[C ₂₁ H ₂₆ O ₂ - H] ⁻	309.1859	309.1860	0.35	9	CBN-C ₅ , CBF-C ₅ ou CBND-C ₅
[C ₂₀ H ₂₆ O ₃ - H] ⁻	313.1811	313.1809	-0.60	8	-
[C ₂₁ H ₃₀ O ₂ - H] ⁻	313.2172	313.2173	0.40	7	Δ ⁹ -trans-THC-C ₅ , CBD, Δ ⁸ -trans- THC, cis-Δ ⁹ -trans-THC-C ₅ , CBL- C ₅
[C ₂₂ H ₃₂ O ₂ - H] ⁻	327.1988	327.1985	0,91	7	CBDM-C ₅ ou CBC-C ₅
[C ₂₁ H ₂₈ O ₃ - H] ⁻	327.1966	327,1766	-0,26	8	OTHC
[C ₂₁ H ₃₀ O ₃ - H] ⁻	329.2123	329.2122	-0.20	7	(E)- CBGVA-C ₃ , CBCON-C ₅ CBE-C ₅

[C ₂₀ H ₂₆ O ₄ - H] ⁻	329.1759	329.1758	-0.17	8	CBEA-C ₃ B, CBDVA-C ₃ , Δ ⁹ -THCVA-C ₃ A
[C ₂₀ H ₂₈ O ₄ - H] ⁻	331.1917	331.1915	-0.74	7	CBCN-C ₅
[C ₂₁ H ₃₂ O ₃ - H] ⁻	331.2283	331.2279	-1.40	6	-
[C ₂₁ H ₂₈ O ₄ - H] ⁻	343.1917	343.1915	-0.58	8	CBCVA-C ₃ A ou Δ ⁹ -THCA-C ₄ A/B
[C ₂₁ H ₃₀ O ₄ - H] ⁻	345.2070	345.2071	0.27	7	CBEA-C ₅ A ou CBEA- C ₅ B
[C ₂₂ H ₂₆ O ₄ - H] ⁻	353.1757	353.1758	0.31	10	[CBNA - H] ⁻
[C ₂₂ H ₃₀ O ₄ - H] ⁻	357.2070	357.2071	0.35	8	[CBDA-C ₅ - H] ⁻ , [Δ ⁹ -THCA-C ₅ A - H] ⁻ , [Δ ⁹ -THCA-C ₅ B - H] ⁻ ou [CBLA- C ₅ A - H] ⁻
[C ₂₂ H ₃₂ O ₄ - H] ⁻	359.2232	359.2228	-1.0	7	-
[C ₂₁ H ₃₀ O ₅ - H] ⁻	361.2026	361.2020	-0.83	7	(-)-6a,7,10a-Trihidroxi-Δ ⁹ -tetrahidrocannabinol ou (-)-Cannabitetrol
[C ₂₂ H ₂₄ O ₅ - H] ⁻	367.1557	367.1551	-1.50	11	-
[C ₂₁ H ₂₄ O ₅ - H] ⁻	367,1188	367,1187	-0,32	12	Cannflavino B
[C ₂₂ H ₂₆ O ₅ - H] ⁻	369.1713	369.1707	-1.60	10	-
[C ₂₂ H ₂₈ O ₅ - H] ⁻	371.1863	371.1864	0.21	9	Δ ⁹ -THCA-A-8-one
[C ₂₂ H ₃₀ O ₅ - H] ⁻	373.2022	373.2020	-0.30	8	11-hidroxi-Δ ⁹ -THCA-A
[C ₂₁ H ₂₈ O ₆ - H] ⁻	375.1818	375.1813	-1.30	8	-
[C ₂₁ H ₃₀ O ₆ - H] ⁻	377.1975	377.1910	-1.40	7	-
[C ₂₂ H ₂₆ O ₆ - H] ⁻	385.1662	385.1657	-1.40	10	-
[C ₂₂ H ₂₈ O ₆ - H] ⁻	387.1812	387.1813	0.40	9	Δ ⁹ -THCA-A-COOH
[C ₂₂ H ₃₀ O ₆ - H] ⁻	389.1971	389.1970	-0.36	8	8β,11-Bis-hidroxi-Δ ⁹ -THC-A
[C ₂₄ H ₃₂ O ₅ - H] ⁻	399.2179	399.2177	-0.39	9	Δ ⁹ -THCA +C ₂ H ₂ O
[C ₂₅ H ₂₅ O ₆ - H] ⁻	421,1658	421,1656	-0,32	13	Cannflavino A
[C ₄₂ H ₅₄ O ₅ - H] ⁻	637.3902	637.3899	-0.40	16	Dímero: 328 Da + 310 Da
[C ₄₂ H ₅₈ O ₅ - H] ⁻	641.4216	641.4212	-0.63	14	Dímero: 314 Da + 328 Da
[C ₄₂ H ₅₄ O ₆ - H] ⁻	653.3852	653.3848	-0.65	16	Dímero: 326 Da + 328 Da
[C ₄₂ H ₅₈ O ₇ - H] ⁻	673.4114	673.4110	-0.70	14	Dímero: 346 Da + 328 Da
[C ₄₃ H ₅₄ O ₇ - H] ⁻	681.3801	681.3797	-0.59	17	Dímero: 354 Da + 328 Da
[C ₄₃ H ₅₈ O ₇ - H] ⁻	685.4114	685.4110	-0.66	15	Dímero: 358 Da + 328 Da
[C ₄₃ H ₅₈ O ₉ - H] ⁻	717.4012	717.4008	-0.54	15	Dímero: 390 Da + 328 Da

Dos cannabinóides identificados na **Tabela 5**, uma única possibilidade de estrutura foi encontrada para os íons de m/z 281, 295, 303, 307, 329 (DBE = 7), 331, 353, 367, 371, 373, 387 389, 399 e 421. Diferentemente, os íons de m/z 285, 309, 313, 327, 329 (DBE = 8), 343, 345, 357 e 361 apresentam isômeros constitucionais, podendo atingir um número máximo de seis isômeros para um mesmo valor de m/z , como é o caso do íon m/z 313. Esse contexto relata a complexidade desse tipo de extrato de planta bruto, justificando a necessidade do uso da técnica de FT-ICR MS.

O sinal apresentado para o íon de m/z 257 mostra a possibilidade de duas estruturas de DBE (7). CBD-C₁, a primeira estrutura e Δ^9 -THCO-C₁, a segunda é descrita na fórmula mínima como sendo C₁₇H₂₁O₂¹²⁸. C₁₉H₂₁O₂, é a fórmula mínima apresentada para o íon 281 com DBE (9), e a estrutura proposta para este é o CBN-C₃^{129 128}. Já o íon de m/z 285 apresenta cinco isômeros constitucionais (CBE-C₃, CBDV-C₃, Δ^9 -THCVA-C₃A, Δ^9 -THCV-C₃ e 2-metil-2-(4-metil-2-pentenil-7-propil-2H-1-benzopiran-5-ol, e todos com a mesma DBE (7). Ambas as estruturas apresentam a mesma fórmula mínima (C₁₉H₂₅O₂)¹²⁹. CBN-C₄ é a estrutura proposta para o íon 295, o qual apresenta DBE (9) e fórmula mínima (C₂₀H₂₃O₂)^{60,129}. O íon 301 foi determinado com fórmula mínima (C₂₀H₂₃O₂) e DBE (8); Apresentam dois isômeros constitucionais (Δ^9 -THCOA-C₁ A ou B), ácido tetrahydrocannabiorcólico, onde a diferença se dá na inversão de posição 1 e 3 da carboxila, grupo COOH (carboxila).

A fórmula (C₁₈H₂₃O₄) foi determinada para o íon 303 e apresentou DBE (7). A estrutura proposta para este composto é CBCN-C₃, conhecido como cannabicromanone^{130,130}. O íon de m/z 307 apresenta DBE (10) e fórmula mínima igual a (C₂₁H₂₃O₂), sendo que a fórmula DCBF-C₅ foi proposta para este composto¹³¹. O íon de m/z 309 apresenta duas possibilidades de estruturas: a primeira é descrita no trabalho como sendo o CBN; a outra é CBF (cannabifurano). Ambas as estruturas possuem a mesma fórmula mínima (C₂₁H₂₆O₂) de DBE (9). Entretanto, a maior parte dos trabalhos reporta esse íon como sendo o CBN. Similarmente outros dois isômeros são descritos para o íon de m/z 345: CBT e ou dihidroxi- Δ^{6a} -THC¹²⁸. Para o íon m/z 313, existem cinco possibilidades de estrutura, e todos possuem o mesmo valor de DBE (7) e de fórmula mínima¹²⁹. Em geral, a melhor possibilidade de diferenciar esses isômeros é através de experimentos de CG-MS e RMN. O íon 327 apresenta fórmula mínima C₂₁H₂₇O₃ e DBE (8). Este pico apresentou-se com média intensidade de 29,39%, e foi identificado como sendo o OTHC. Um isóbaro 327 com fórmula mínima C₂₂H₃₂O₂ e DBE (7) apresenta duas possibilidades CBDM-C₅ ou CBC-C₅⁶⁰. O sinal 329 apresenta a possibilidade de 2 isômeros: [(E)-CBGVA-C₃A-H]⁻ e CBCON-C₅-H]⁻ e ambos apresentam fórmula mínima C₂₁H₂₉O₃ e DBE (7). O íon [CBCN-C₅-H]⁻ foi identificado com o sinal de m/z igual a 331 e DBE (7)¹³². O íon de m/z 343 apresenta duas possibilidades de isômeros: [Δ^9 -THCA-C₄A/B-H]⁻ e [CBCVA-C₃A-H]⁻, ambos com fórmula mínima C₂₁H₂₇O₃ e DBE igual 8^{129 133}. Um íon com m/z igual a 345 apresenta duas possibilidades de estrutura: [CBEA-C₅A-H]⁻ e [CBEA-C₅B-H]⁻ sendo ambos com

fórmula mínima igual a $C_{21}H_{29}O_4$ e DBE 8⁶⁰. O íon 353 apresentou intensidade média de 34,24%, com fórmula mínima $C_{22}H_{25}O_4$ e DBE (10), foi identificado como CBNA- C_5 A (Ácido Cannabinólico A)^{134 135}. Outra possibilidade de isômeros é para o íon de m/z 357: CBCA, CBDA ou Δ^9 -THCA. Ambos possuem a mesma fórmula mínima ($C_{22}H_{29}O_4$), defeito de massa e DBE (8). Entretanto, os experimentos de ESI(-)-FTMS/MS corroboram a estrutura Δ^9 -THCA¹³⁴. O íon 361 apresenta fórmula mínima $C_{21}H_{29}O_5$ e DBE (7), e é descrito na literatura como (-)-6a,7,10a-trihidroxi- Δ^9 -tetrahydrocannabinol ou [(-)-Cannabitol]¹³⁵. O íon $[C_{22}H_{24}O_5 - H]^-$ de m/z 367,1188 foi identificado como sendo o Cannflavino B com DBE (12), pertencente a classe dos noncannabinóides. Ver figura 45.

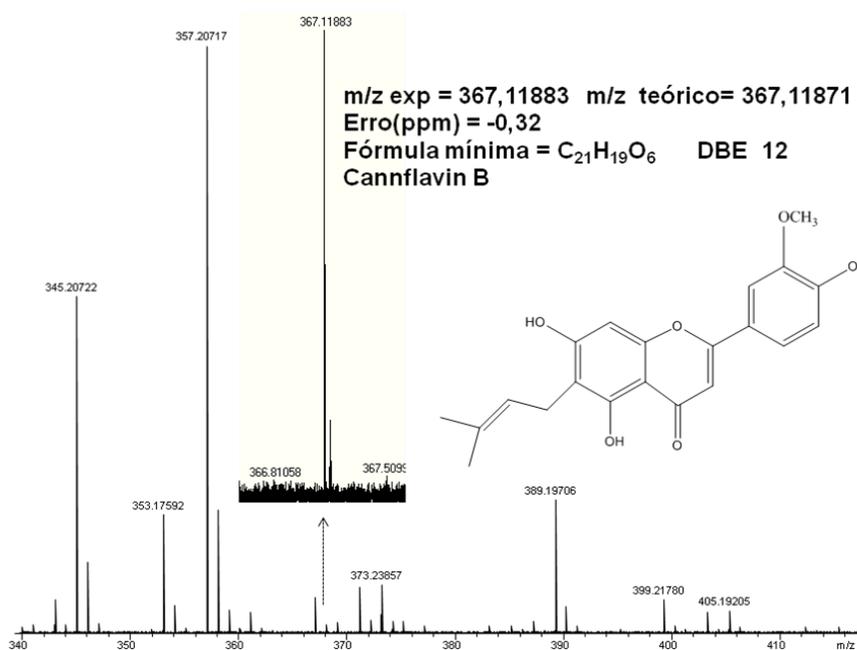


Figura 45 CANNFLAVINO B. Cannabinóide identificado por ESI(-) FT-ICR MS.

Para o íon 371 com fórmula mínima $C_{22}H_{27}O_5$ e DBE (9), uma única possibilidade é mostrada pela literatura: $[\Delta^9$ -THCA-A-8-one - $H]^-$ ¹³⁴. $[11$ -hidroxi- Δ^9 -THCA-A- $H]^-$ é o íon de m/z 373 de fórmula mínima $C_{22}H_{29}O_5$ e DBE (8)¹³⁴. O íon de m/z 387, que apresenta fórmula mínima $C_{22}H_{27}O_6$ e DBE (9), é o $[\Delta^9$ -THCA-A-COOH - $H]^-$ 11-nor-9-carboxi - $[\Delta^9$ -THCA-A]. Para o íon de m/z , 389, um único composto é descrito na literatura: 8 β ,11-Bis-hidroxi- Δ^9 -THC-A, respectivamente⁶⁰. Para o íon de m/z 399, uma nova espécie será descrita como íon $[\Delta^9$ -THCA + $C_2H_2O - H]^-$. O íon $[C_{25}H_{25}O_6 - H]^-$ de m/z 421,16580 foi identificado como sendo o noncannabinóide Cannflavino A, a figura 46 mostra o espectro obtido.

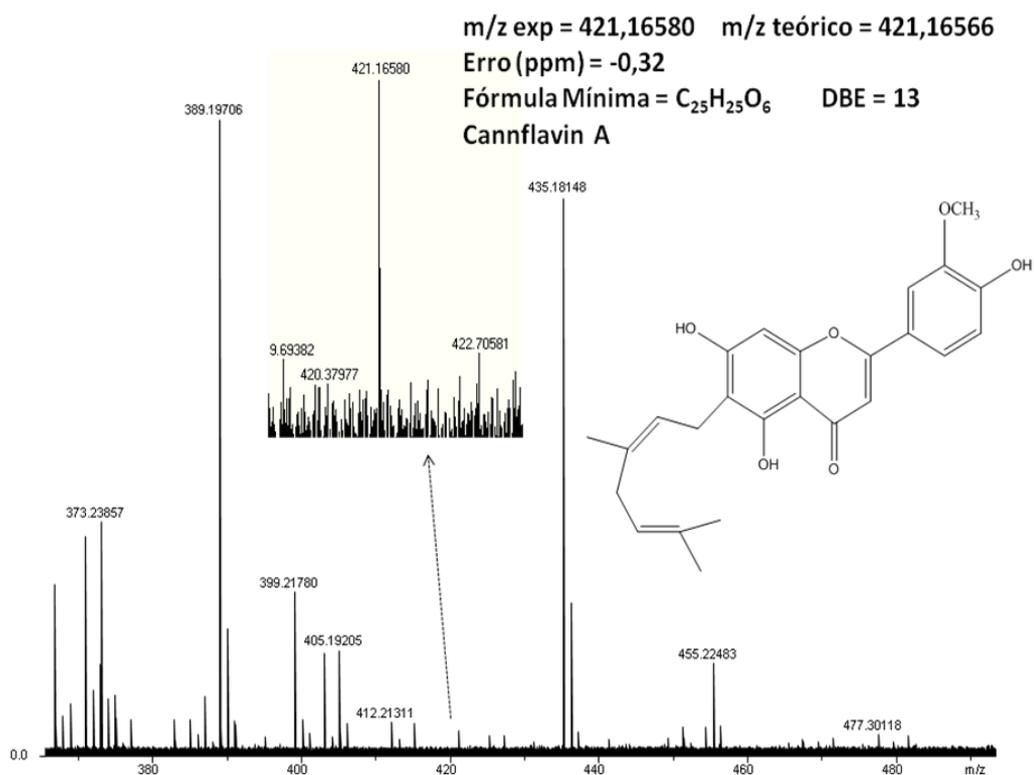


Figura 46 CANNFLAVINO A. Noncannabinóide fenol identificado por ESI(-)-FT-ICR MS

A figura 47 mostra alguns ácidos graxos identificados por ESI(-)-FT-ICR MS, em amostra de sementes de *Cannabis sativa* L., de acordo com a literatura, o óleo de semente de *Cannabis* é riquíssimo em aminoácidos e ácidos “gordos” essenciais. Os íons $[C_{16}H_{32}O_2 - H]^-$ DBE 1, $[C_{18}H_{30}O_2 - H]^-$ DBE 4 e $[C_{18}H_{32}O_2 - H]^-$ DBE 3 com m/z 255, 277 e 279, respectivamente.

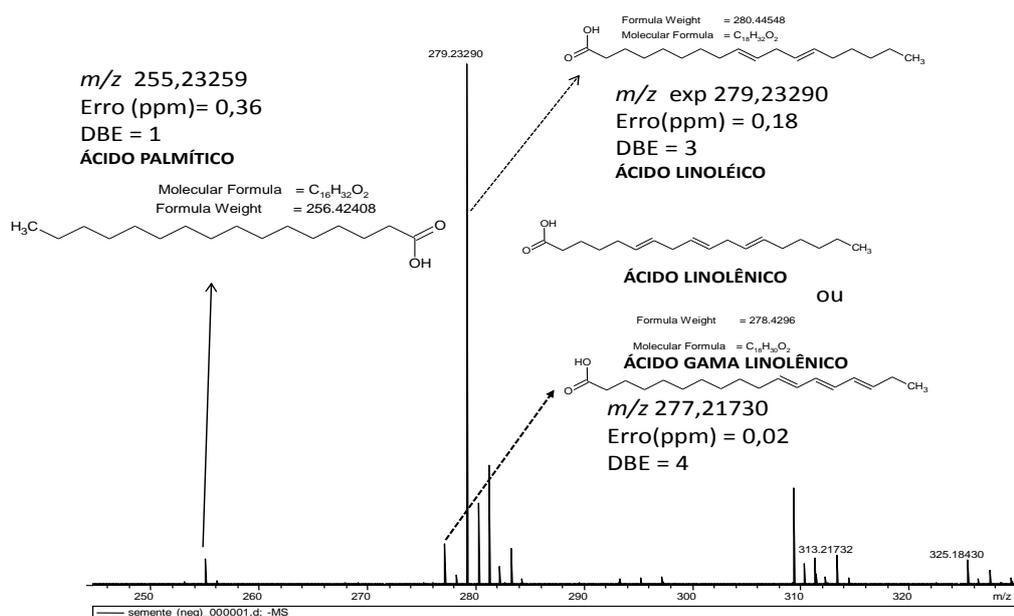


Figura 47 Sinais de ácidos graxos encontrados em amostras de sementes de *Cannabis sativa* L.

4.2.1- ESI(-)-FT-ICR MS/MS

A **Figura 48a-h** mostram os espectros de ESI(-)-FT-ICR MS/MS para os íons de m/z **(a)** 309, **(b)** 313, **(c)** 327, **(d)** 345, **(e)** 353, **(f)** 357, **(g)** 389 e **(h)** 399. Em geral, os experimentos de CID para os íons de m/z 327, 345, 353 e 389, **45c, d, e, g** mostraram a perda do íon de m/z 309 como sendo a espécie majoritária além de apresentarem um perfil de fragmentação semelhante. Portanto, essas estruturas devem apresentar como núcleo básico o composto CBN. Por outro lado, os experimentos de CID para o íon de m/z 357, **Figura 48e**, levam à formação do íon de m/z 313 a partir da perda neutra de 44 Da (CO_2), comprovando, assim, a presença de um grupo ácido carboxílico na estrutura do Δ^9 -THCA. Similarmente, uma perda neutra de 44 Da (CO_2) foi também observada a partir dos experimentos de CID para os íons de m/z 353 e 399, formando agora os íons de m/z 309 e 355, respectivamente, **Figuras 48e, h**. O último (**48h**), apresenta uma correlação com a estrutura do composto Δ^9 -THCA, **Figura 48f**.

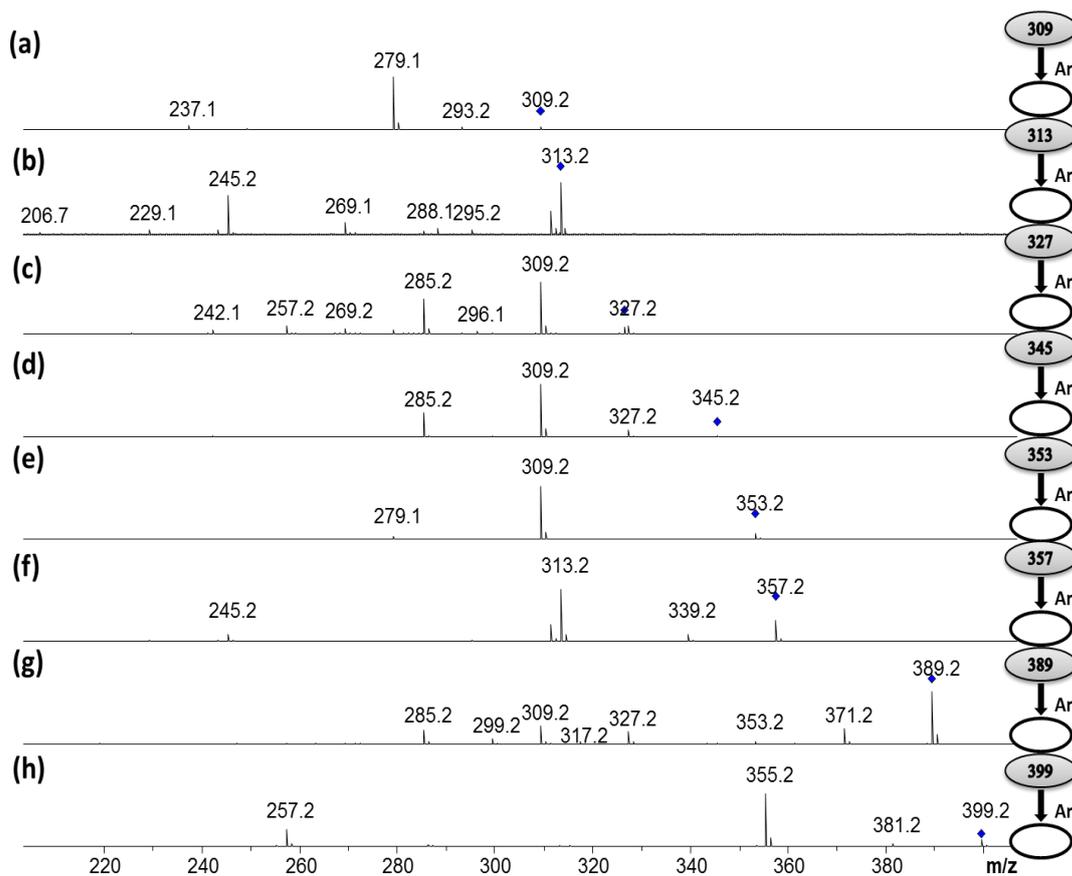


Figura 48 Espectros de ESI(-)-FT-ICR MS/MS para os íons de m/z (a) 309, (b) 313, (c) 327, (d) 345, (e) 353, (f) 357, (g) 389 e (h) 399.

Propostas de fragmentações dos experimentos de ESI(-)-FT-ICR MS/MS para os íons 309 e 313 são mostradas na figura 48.

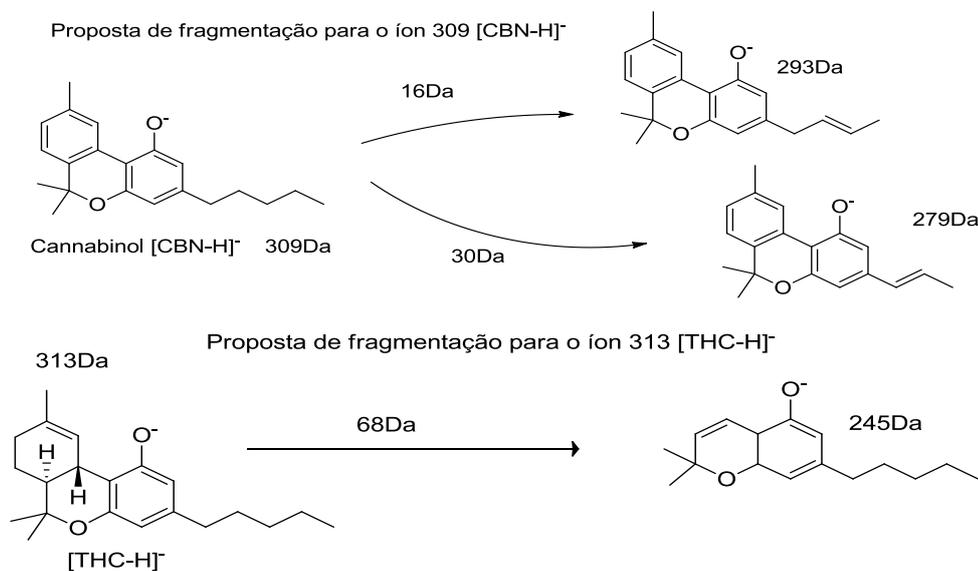


Figura 49 Propostas de fragmentações para os íons [CBN-H]⁻ 309 Da e [THC-H]⁻ 313Da

A **Figura 50** mostra os espectros de ESI(-)-FT-ICR MS/MS para os íons de m/z **(a)** 637, **(b)** 639, **(c)** 641, **(d)** 653, **(e)** 673, **(f)** 681, **(g)** 685 e **(h)** 717. Na maior parte dos casos, observamos a perda neutra de 328 Da, correspondendo ao composto CBDM e formando fragmentos como os íons de m/z 309, 313, 327, 325, 345, 353, 357 e 389, respectivamente. Isso comprova, portanto, a formação de dímeros que podem existir naturalmente na planta ou que são formados durante o processo de ionização por ESI(-).

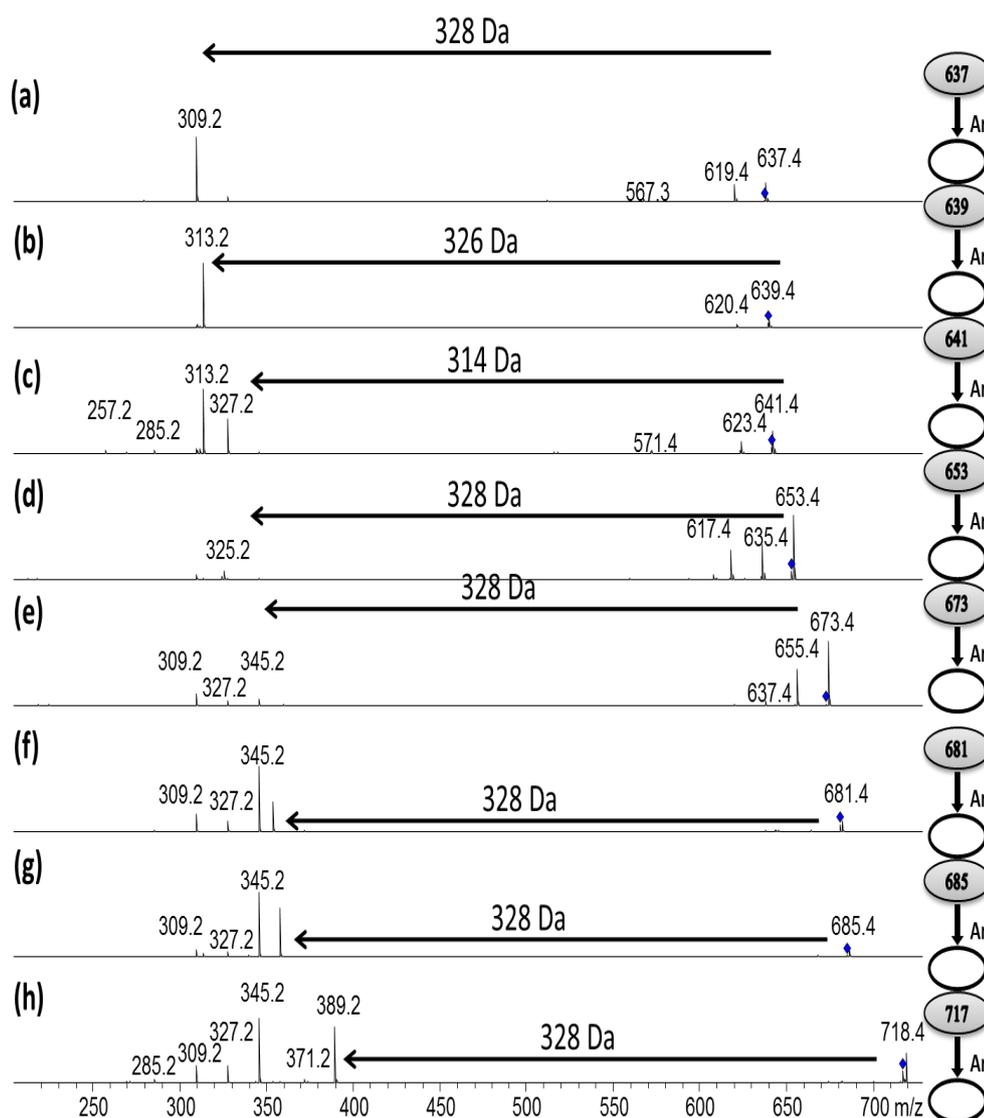


Figura 50 Espectros de ESI(-)-FT-ICR MS/MS para os íons de m/z **(a)** 637, **(b)** 639, **(c)** 641, **(d)** 653, **(e)** 673, **(f)** 681, **(g)** 685 e **(h)** 717.

A **figura 51** mostra a proposta de fragmentação para o íon $[M-H]^-$: 357 THCA, o qual gera íons 313, 245 e 191. De acordo com a literatura, o trabalho realizado com padrão de Δ^9 -THC e CBD produziu espectros de MS/MS diferentes apenas no

modo (-). O espectro ESI(-)-FT-ICR MS/MS do $[M-H]^-$: 313 CBD não produz o íon 191, enquanto o THC, sim ^{134 136}. As análises foram realizadas numa relação massa carga m/z de 200 a 400. Para MS/MS do íon 313 aumentou-se a relação massa carga m/z 170 a 400, à procura do íon 191. A **figura 52** mostra o espectro ESI(-) FT-ICR MS/MS do íon 313 $[M-H]^-$, em destaque o íon 191, confirmando a presença da substância psicotrópica Δ^9 -THC. Para eliminar a dúvida, visto que são amostras de maconha e não padrão de Δ^9 -THC, foram realizadas análises por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas CG-MS.

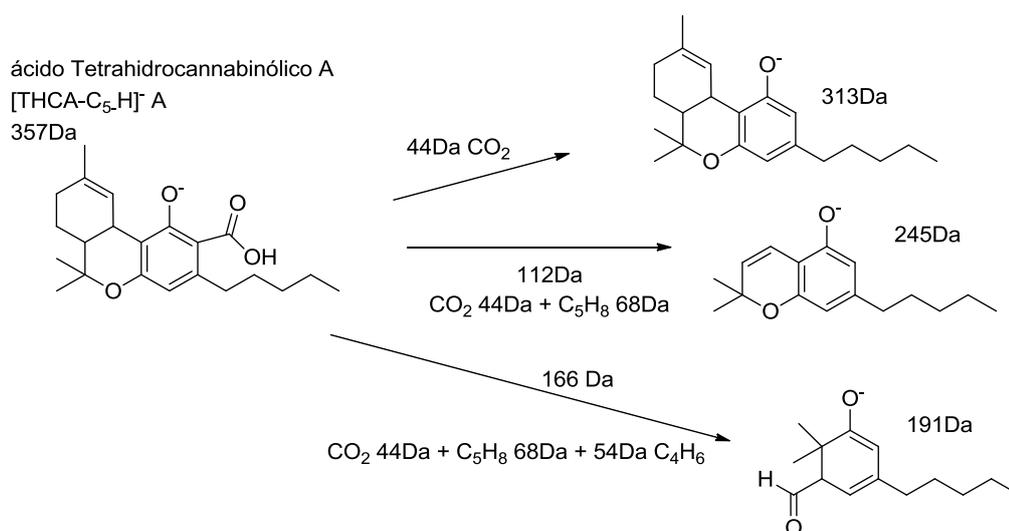


Figura 51 Proposta de fragmentação do íon $[THCA-C_5-H]^-$: 357.

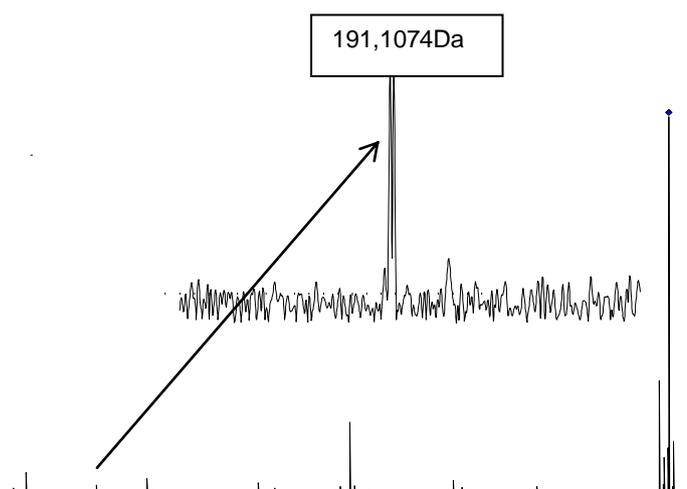
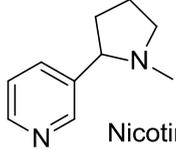
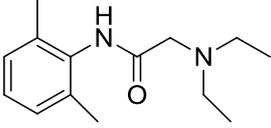
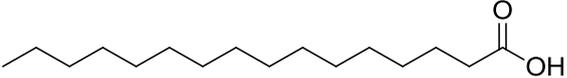
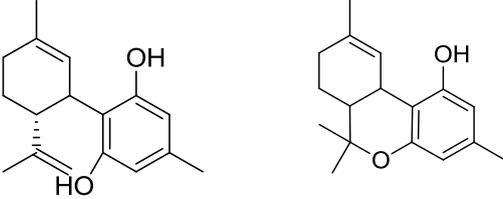
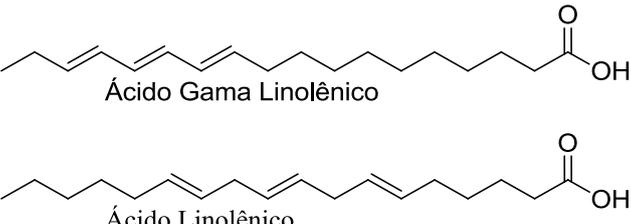
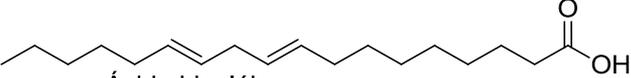
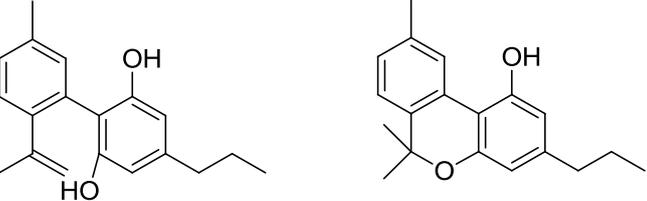
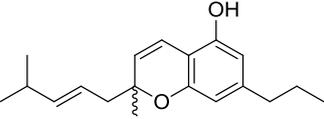
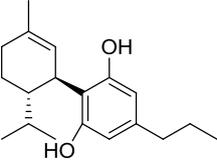
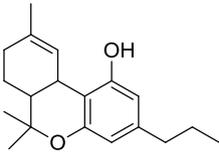
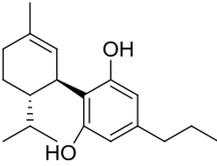
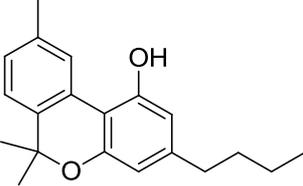
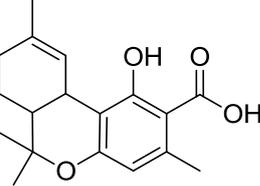
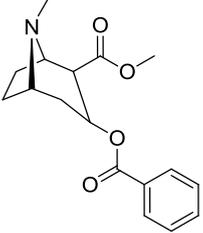
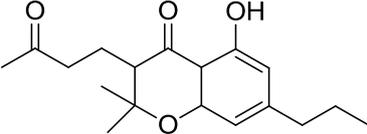
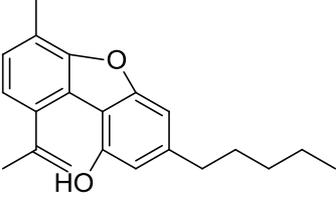
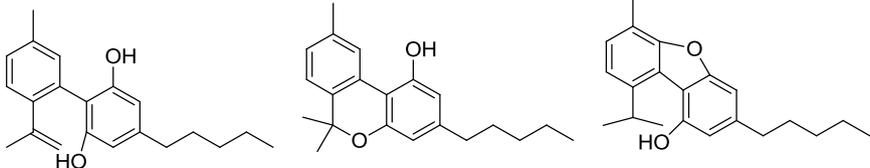
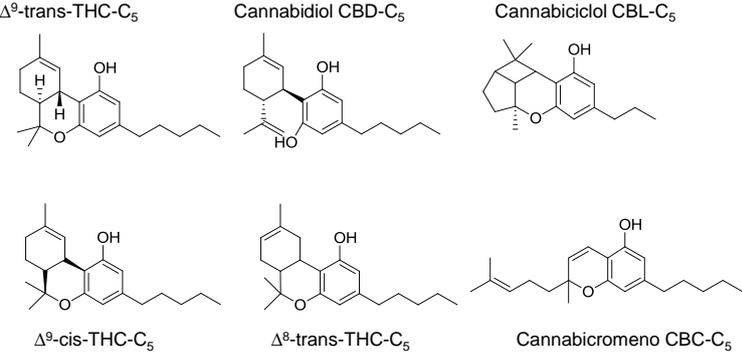
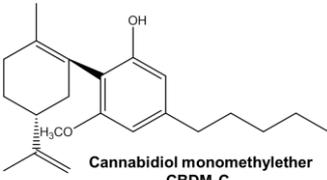
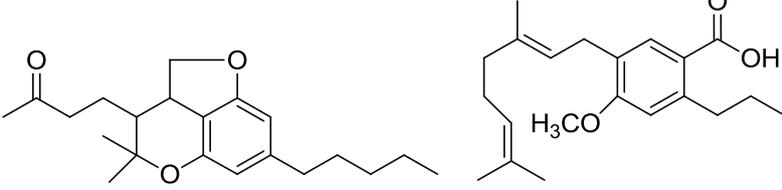


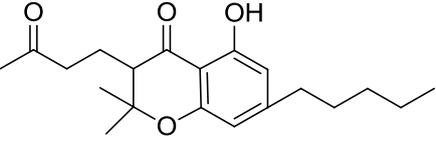
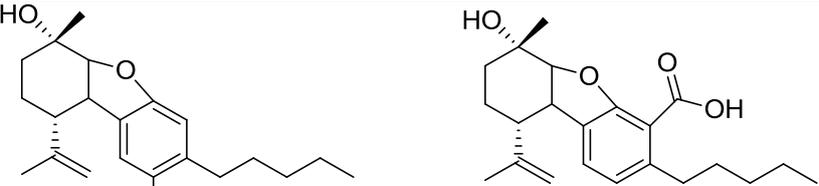
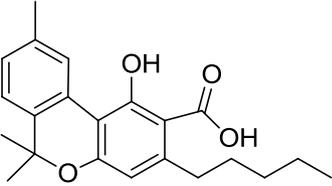
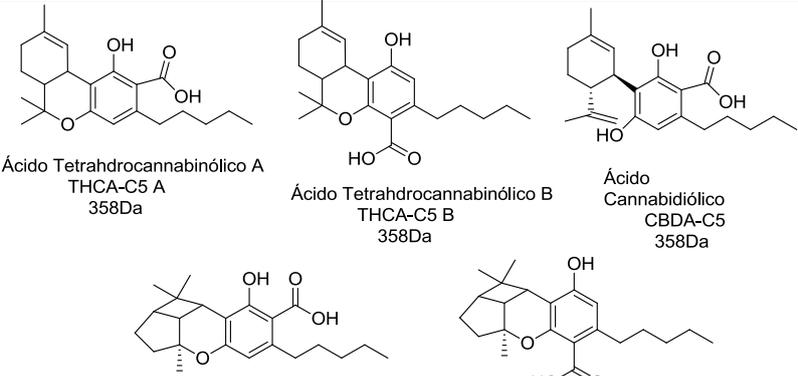
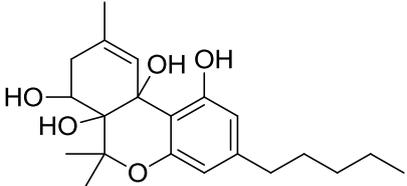
Figura 53 MS/MS do íon 313, em destaque o íon 191, o qual determina que o íon 313 é o $[THC-H]^-$

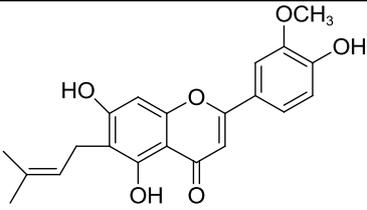
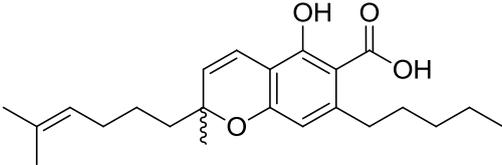
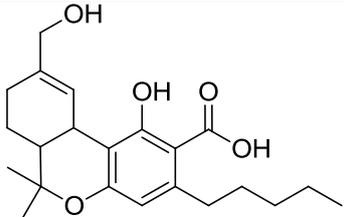
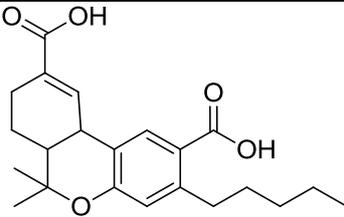
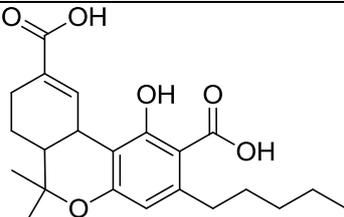
Tabela 6 Estruturas propostas para moléculas identificadas em amostras de maconha, haxixe, partes da planta *Cannabis sativa* L. por ESI(±)-FT-ICR MS e MS/MS e suas respectivas massas moleculares

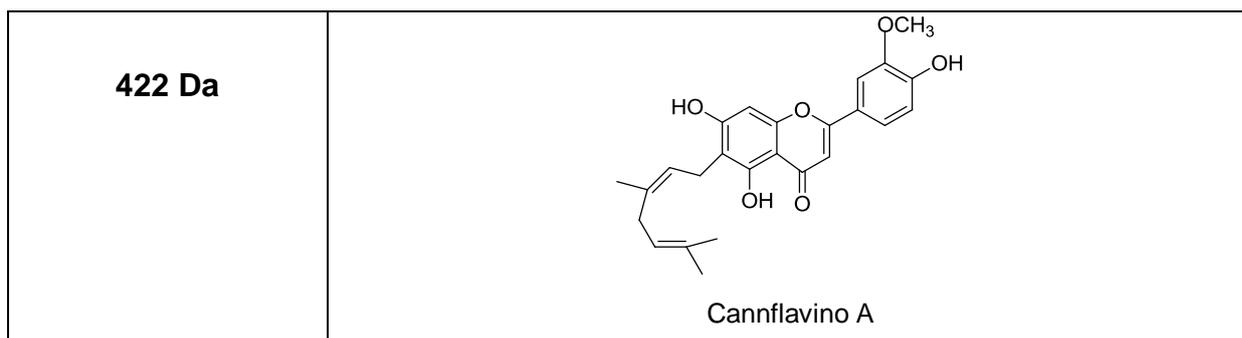
PESO MOLECULAR	ESTRUTURA PROPOSTA
162 Da	 <p>Nicotina</p>
234 Da	 <p>Lidocaína</p>
256 Da	 <p>Ácido palmítico</p>
258 Da	 <p>Cannabidiol (CBD-C1) 258 Da</p> <p>Tetrahydrocannabinol (THCO-C1) 258 Da</p>
278 Da	 <p>Ácido Gama Linolénico</p> <p>Ácido Linolénico</p>
280 Da	 <p>Ácido Linoléico</p>
282 Da	 <p>Cannabinodivarin - CBVD-C3 282 Da</p> <p>Cannabivarin - CBV - C3 282 Da</p>

<p>286 Da</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>2-Metil-2-(4-metil-2-pentenil)-7-propil-2H-1-benzopiran-5-ol 286 Da</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Cannabidivarin - CBDV-C3 286 Da</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <p>Tetrahydrocannabivarin THCv-C3 286 Da</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Cannabidivarin - CBDV-C3 286 Da</p> </div> </div>
<p>296 Da</p>	<div style="text-align: center;">  <p>Cannabinol- CBN-C4 296 Da</p> </div>
<p>302 Da</p>	<div style="text-align: center;">  <p>Ácido Tetrahydrocannabiorcólico THCOA-C1 302 Da</p> </div>
<p>303 Da</p>	<div style="text-align: center;">  <p>Cocaina</p> </div>
<p>304 Da</p>	<div style="text-align: center;">  <p>Cannabicromanone- C3 CBCN-C3 304Da</p> </div>

<p>308 Da</p>	 <p>Dehidrocannabifurano (DCBF-C5) 308 Da</p>
<p>310 Da</p>	 <p>Cannabinodiol CBND 310 Da Cannabinol - CBN-C5 310Da Cannabifuran CBF 310Da</p>
<p>314 Da</p>	 <p>Δ^9-trans-THC-C₅ Cannabidiol CBD-C₅ Cannabiciclol CBL-C₅ Δ^9-cis-THC-C₅ Δ^8-trans-THC-C₅ Cannabicromeno CBC-C₅</p>
<p>328 Da</p>	 <p>Cannabidiol monomethylether CBDM-C₅</p>
<p>330 Da</p>	 <p>Cannabicoumaronone CBCON-C₅ 330Da Ácido Cannabigerólico A [(E)-CBGVA-C3 A] 330Da</p>

<p>332 Da</p>	 <p>Cannabichromanone CBCN-C5 332Da</p>
<p>346 Da</p>	 <p>Ácido Cannabidiólico B CBEB-C5 346 Da</p> <p>Ácido Cannabidiólico A CBEA-C5 346 Da</p>
<p>354 Da</p>	 <p>Ácido Cannabinólico A (CBNA-C5 A) 354 Da</p>
<p>358 Da</p>	 <p>Ácido Tetrahrocannabinólico A THCA-C5 A 358Da</p> <p>Ácido Tetrahrocannabinólico B THCA-C5 B 358Da</p> <p>Ácido Cannabidiólico CBDAC5 358Da</p> <p>Ácido Cannabiciclólico A CBLA-C5 A 358Da</p> <p>Ácido Cannabiciclólico A CBLA-C5 A 358Da</p>
<p>362 Da</p>	 <p>Trihidroxi-Δ^9-THC (triOH-THC) 362Da</p>

368 Da	 <p>Cannflavino B</p>
372 Da	<p>(±)-Ácido Cannabicromênico A [E]-CBGA-C5 - A</p> 
374 Da	 <p>11-hidroxi-Δ^9-THCA-A</p>
388 Da	 <p>11-nor-carbóxi-Δ^9-THCA</p>
390 Da	 <p>8β,11bis-hidroxi-THCA</p>



4.3- Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas

A técnica de CG-MS se fez necessária, uma vez que o equipamento apresenta uma biblioteca de espectros de massas com milhares de compostos, entre eles o Δ^9 -THC. A partir da comparação percentual de similaridade, é possível distinguir o cis-THC, trans-THC e CBD.

A análise de CG-MS veio elucidar a dúvida em relação ao íon 313 (CBD ou Δ^9 -THC). A **figura 53** mostra o cromatograma obtido de uma amostra de maconha (detalhe para o pico 3), e a substância psicoativa trans- Δ^9 -THC foi identificada com 95% de similaridade, de acordo com a biblioteca do CG-MS.

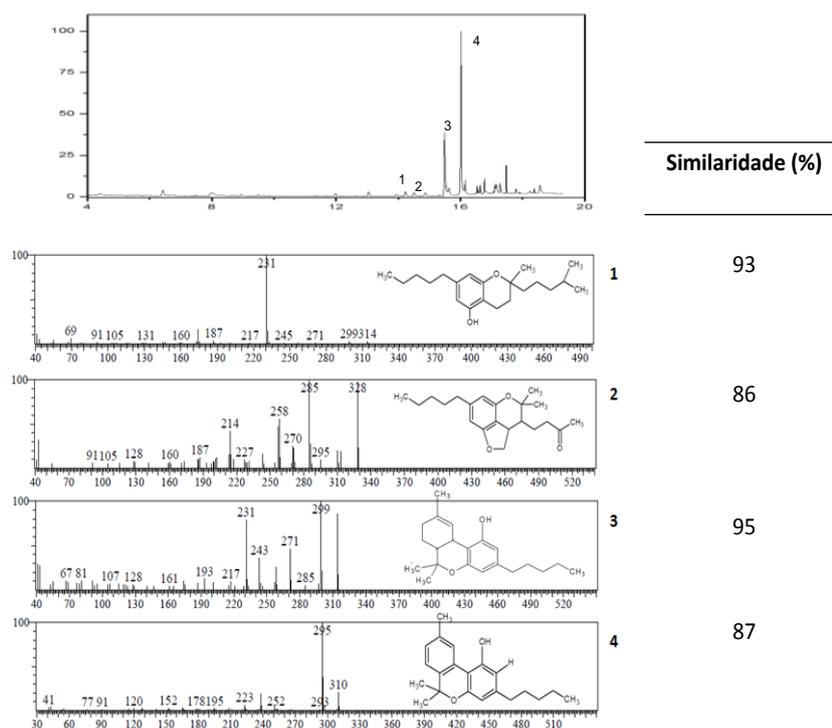
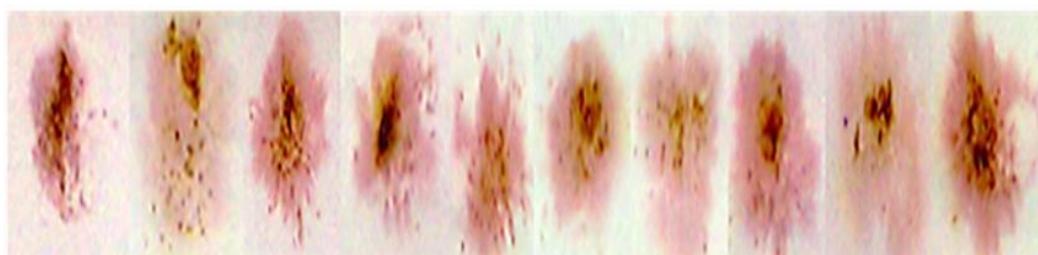


Figura 54 Cromatograma obtido de uma amostra de maconha. A estrutura 3 apresenta 95% de similaridade com o trans- Δ^9 -THC.

4.4- Teste Colorimétrico e Limite de detecção

O teste colorimétrico utilizado pela Polícia Civil do Estado do Espírito Santo, é o teste de Salt Fast Blue B, segundo a literatura, e este teste apresenta resultados positivos para inúmeras plantas, como a Carobinha – *Jacaranda decurrens cham.* e Guaraná – *Paulinia cupana kunth*¹²⁰. A reação colorimétrica que ocorre neste teste é atribuída à natureza fenólica da estrutura química dos cannabinóides; logo, não há especificidade no teste, pois outros vegetais apresentam este mesmo grupo químico¹²⁰. Como era esperado, o teste apresentou resultado positivo para as amostras de maconha, caule, haxixe e florescência, e negativos para semente e folha triturada, **Figura 54**.

Amostras de Maconha



Haxixe Flor Caule Folha Semente Branco



Figura 55 Teste colorimétrico Salt Fast Blue B, aplicado em 10 amostras de maconha prensada, haxixe, flor, caule, folha e semente. Os números os quais identificam as amostras, são referentes aos laudos de apreensão da Polícia Técnica do Estado do Espírito Santo.

O teste apresentou sensibilidade de 81,25%, e especificidade de 50%, valor preditivo positivo igual a 81,25% e 18,75% de valor preditivo negativo; ou seja,

existem 18,75% de chances da amostra não ser maconha, contra 81,25% de chances da amostra ser realmente maconha.

A **Figura 55** mostra os limites de detecção da reação química entre os cannabinóides e o Sal Salt Fast Blue B. Verifica-se que uma concentração abaixo de 0,125mg apresenta resultado negativo.

A especificidade é de 50%, sensibilidade igual a 75%, VPP de 75% e VPN igual a 25%. Logo, há 75% de chances das amostras com resultados negativos apresentarem cannabinóides em sua composição¹²¹.

A análise realizada para a sensibilidade e especificidade do método necessita de um padrão ouro. Com a falta de padrão de trans- Δ^9 -THC, CBD ou THCA, utilizou-se como padrão ouro, uma amostra de maconha, que por análise de cromatografia gasosa, apresentou 95% de similaridade com trans- Δ^9 -THC, demonstrando que a sensibilidade do teste está acima da média. O ideal seria utilizar um padrão de Δ^9 -THC como padrão ouro; porém, não foi possível, devido a falta desta substância tanto em nosso laboratório quanto no laboratório da Polícia Civil do Estado do Espírito Santo.

O teste apresenta uma especificidade mediana, e com o passar do tempo ocorre a degradação do ácido tetrahidrocannabinólico em THC e, em seguida, a CBD, que não é psicoativo. Na verdade, ele exerce um efeito contrário ao THC. A forma de armazenamento das amostras é simples, pois são acondicionadas em sacos plásticos à temperatura ambiente, sendo inútil qualquer análise após seis meses de apreensão. Porém, a presença de CBD já comprova a amostra como droga.

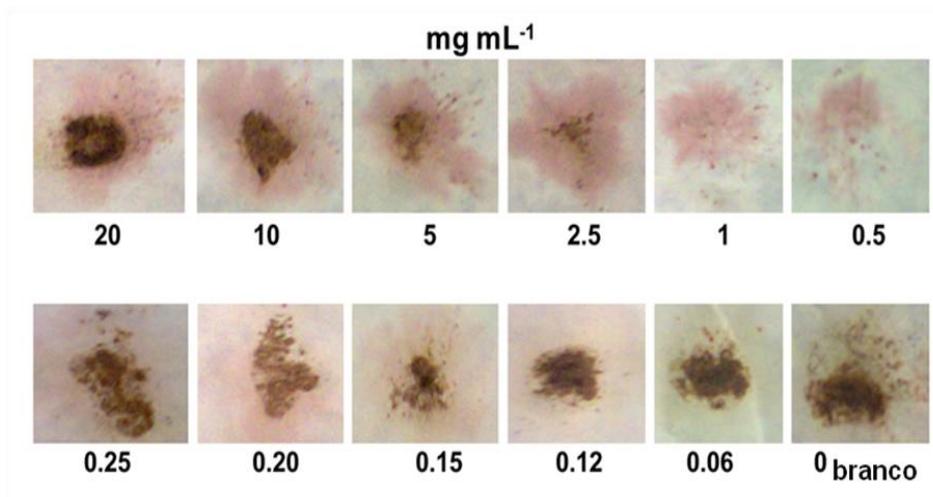


Figura 56. Teste colorimétrico aplicado à mesma amostra em concentrações diferentes. Verificação do limite de detecção

4.5- Tratamento Quimiométrico/ PCA

Uma análise multivariada, usando a análise das componentes principais (PCA), foi realizada para as 43 amostras em ambos os modos de ionização ESI(±). Matrizes 43 X 802 para o ESI(+) e 43 X 1269 para o ESI(-) foram construídas. Essa análise foi realizada com objetivo de classificar as amostras em função do registro de apreensão; ou seja, da localização das amostras no Estado (Grande Vitória, Sul, Norte e Nordeste). Para o modo ESI(-), nenhum resultado significativo foi observado. Portanto, as Figuras não serão mostradas nesse momento. Isso se deve ao menor número de variáveis observadas quando comparamos com o ESI(+), e da presença de uma única classe química: os cannabinóides. Diferentemente, no ESI(+), várias classes de compostos químicos podem ser detectados e a classificação pode ser influenciada em função da manipulação da amostra (adição de adulterantes). Em vista disso, a **Figura 56a-b** mostra os gráficos de scores e loadings das duas primeiras componentes principais (PC1 vs PC2). Ambas descreveram 41 % da variância, separando as amostras em três grupos distintos em função da concentração do Δ^9 -THC (**grupo A**), e da quantidade de impurezas (alta = **grupo B**; baixa = **grupo C**). Infelizmente, não foi observada a existência da correlação entre os grupos com o local ou origem de apreensão. Portanto, pode se afirmar que existem três grupos distintos de traficantes, e as amostras são comercializadas em todo o território estadual. Essa consideração é válida para o universo de variáveis usadas neste trabalho.

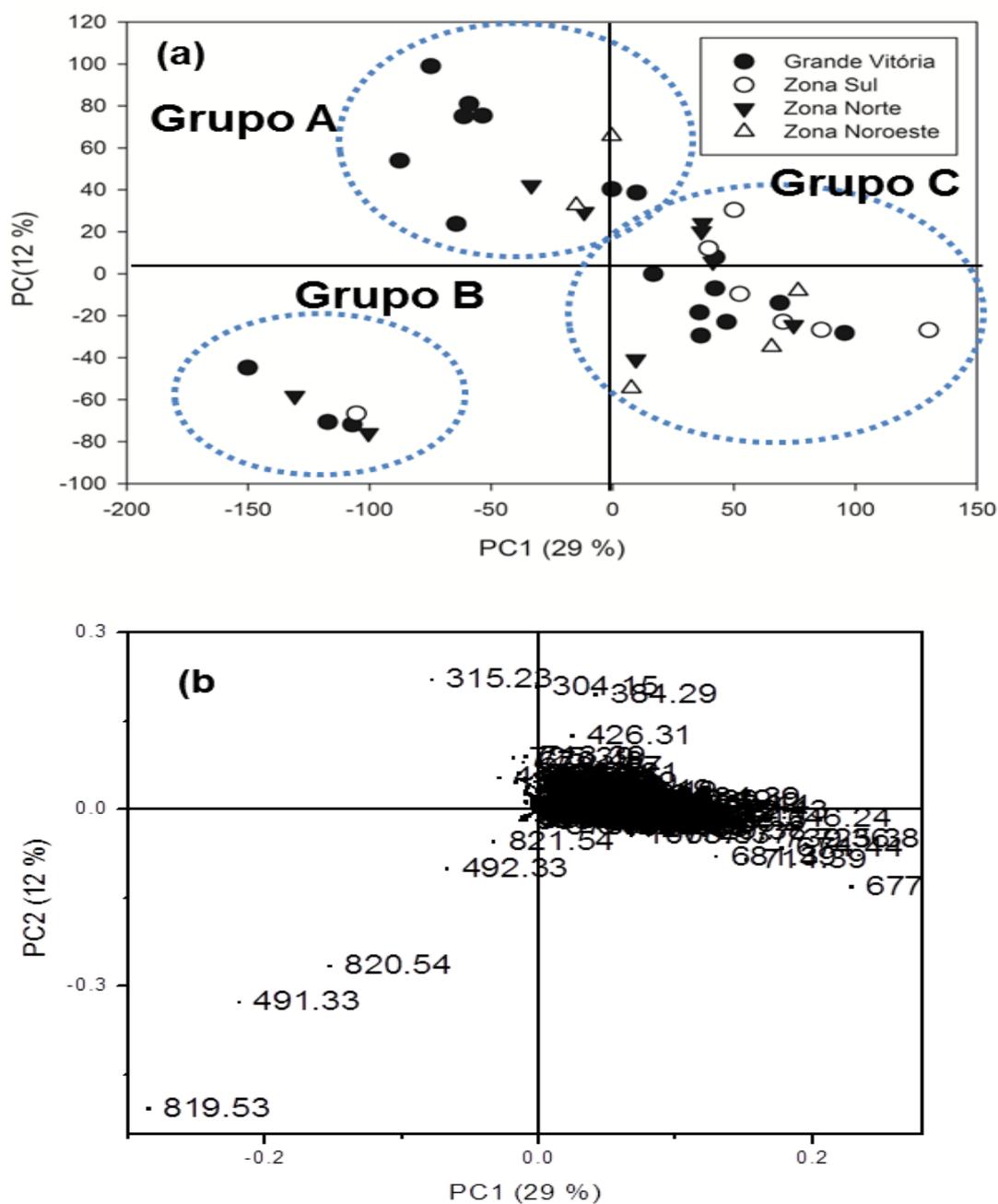


Figura 57 Scores e Loadings das duas primeiras componentes principais (PC1 vs PC2). Ambas descreveram 41 % da variância, separando as amostras em três grupos distintos, em função da concentração do Δ^9 -THC (**grupo A**) e da quantidade de impurezas (alta = **grupo B**; baixa = **grupo C**). Observe que não existe correlação dos grupos formados com a origem de apreensão.

5. CONCLUSÃO

Quarenta e três amostras de maconha foram analisadas em ambos os modos de ionização ESI(\pm)-FT-ICR MS. Os resultados no modo negativo ESI(-), são essenciais na identificação de espécies cannabinóides, sendo fundamental na detecção do Δ^9 -THC como molécula desprotonada, $[M-H]^-$: íon de m/z 313. Como nesse modo de ionização existe apenas uma classe de compostos químicos, o efeito de supressão iônica é minimizado. Além da identificação da principal espécie psicotrópica presente em prensados de maconha, vários outros cannabinóides foram também identificados na forma de molécula desprotonada, $[M-H]^-$ ou de clusters $[M + N - H]^-$, onde M e N podem ser: CBN, CBDM, Δ^6 -THC, CBNA, Δ^9 -THCA, 8 β ,11-Bis-hydroxy- Δ^9 -THC-A e Δ^9 -THCA +C₂H₂O. No modo positivo de aquisição de íons, ESI(+)-FT-ICR MS, o Δ^9 -THC pode ser detectado na forma de molécula protonada, $[M + H]^+$: íon de m/z 315.

Entretanto, a sua detecção pode ficar comprometida pela presença de contaminantes em elevada concentração, como cocaína ($[M + H]^+$: 304) e lidocaína ($[M + H]^+$: 235), e o íon $[C_{31}H_{42}N_2O_3 + H]^+$ de m/z 491 produz fragmentos com m/z 329, 311, 287 e 271, em que o íon 491 se fragmenta e forma o 329 e de 329 para 311. Esta fragmentação corresponde a perda neutra de 162 Da (nicotina) e 18 da (H₂O), respectivamente. A série de sinais observados com m/z menor do que 329 (311, 287 e 271), são atribuídos à fragmentação OTHC. Além disso, a ESI(+) MS/MS do íon $[C_{52}H_{70}N_2O_6 + H]^+$ de m/z 819 produz fragmentos principais de m/z 419 e 329 através de perdas neutras de 328Da e 162Da, correspondentes para OTHC e moléculas de nicotina, respectivamente.

Portanto, o íon $[C_{52}H_{70}N_2O_6 + H]^+$ de m/z 819 corresponde ao dímero de OTHC ligado com uma molécula de nicotina, sendo também expresso como $[M + 2N + H]^+$, onde M= C₂₁H₂₈O₃ e N= C₁₀H₁₄N₂. Finalmente, para o espectro de ESI(+) MS/MS do íon $[C_{73}H_{98}N_2O_9 + H]^+$ de m/z 1147, um padrão de fragmentação semelhante é também observado, o que confirma a presença de um trímero de OTHC, mais uma molécula de nicotina, onde são identificadas duas perdas neutras de 328Da (1147 - 819 e 819 - 491) e um de 162 Da (491 - 329). Foram analisadas semente, caule, folha e flor da planta *Cannabis Sativa L.* e duas amostras de haxixe foram analisadas via ESI(-)-FT-ICR MS: na maconha, hashish, nas folhas e na flor,

onde uma maior concentração de Δ^9 -THCA foi detectada. Em amostras de semente e caule a intensidade do sinal 357 foi relativamente menor.

Foi verificado que o teste colorimétrico Sal Fast Blue B não poderia ser usado exclusivamente como única prova para incriminar, por ser um teste com falsos negativos e falsos positivos, embora a sua realização seja rápida e simples. Devido às suas limitações, os resultados positivos devem ser obrigatoriamente confirmados, através de técnicas mais específicas como: FT-ICR MS (técnica utilizada neste trabalho), que apresenta alto custo; porém, altíssima resolução, CG-MS, Cromatografia em Camada Delgada, para que a qualidade do laudo seja garantida e não venha ocorrer equívocos, atrapalhando o inquérito policial.

Análise de componentes principais foram realizadas para as 43 amostras usando os dados obtidos em ambos os modos de ionização ESI(\pm)-FT-ICR MS. A partir dos dados de ESI(-), os resultados das PCs mostraram nenhum agrupamento significativo. Isto ocorre devido à presença majoritária de uma única classe química, os cannabinóides. Diferentemente, no ESI(+)-FT-ICR MS várias classes de compostos químicos podem ser detectados, e a classificação pode ser influenciada em função da manipulação da amostra (adição de adulterantes). Conseqüentemente, as amostras foram classificadas em três grupos distintos, em função da concentração do Δ^9 -THC (**grupo A**) e da quantidade de impurezas (alta = **grupo B**; baixa = **grupo C**). Infelizmente, não foi observada a existência da correlação entre os grupos com o local ou origem de apreensão.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹- ESTORTI, Gabriela M. E. (2011). O Papel da Química Forense. e-mol 8-10.
- ²- HOLANDA, Aurélio Buarque. Disponível em www.dicionariodoaurelio.com Acesso em 10/07/2013
- ³- OLIVEIRA, M. F. (2006); QUÍMICA FORENSE: A utilização da química na pesquisa de vestígios do crime. QUÍMICA Nova na Escola, 24, 17-19.
- ⁴- COLLINS, David; (2006). Forensic Chemistry. *Brighan Young University*, 2.
- ⁵- CALAZANS, C. H., & CALAZANS, S. M. (2005). Ciência Forense: das Origens à Ciência Forense Computacional. São Paulo, SP: USP.
- ⁶- MARANEY, E. G.S. (2012). Arquivo Público da Polícia Técnica do Estado do Espírito Santo. Vitória – ES.
- ⁷- LEONARDO, A. J., MARTINS, D. R. & FIOLEAIS, C.(2009). Antônio da Costa Simões e a Gênese da Química Forense em Portugal. Ed. Coimbra, Portugal. Departamento de Física e Centro de Física Computacional. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.
- ⁸- CORRÊA, J. D. (1842). Ensaio do arsênico pelo cobre, feito pelo Sr. Hugo Reinsch. *Jornal da Sociedade Pharmaceutica Lusitana*, Vol. XXVII, pág 313. Imprensa de Cândido Antonio da Silva Carvalho. Tomo III, nº8, p. 371.
- ⁹-LUQUE, B.S. (2002). Ciência Forense: ¿Cómo usar la ciencia y la tecnología para desvelar lo ocurrido? Disponível em <http://forensicchemistrykrystalbryant.weebly.com/history.html>. Acesso em 13 de março de 2013.

¹⁰-WENNING, R. (22/04/2009). Back to the roots of modern analytical toxicology: Jean Servais Stas and the Bocarmé murder case. DRUG TESTING ANALYSIS, 1-3.

¹¹-STAUFFER, E. (2004). Dr. Edmond Locard and Trace Evidence Analysis in Criminalistics in the early 1900s: How Forensic Sciences Revolve Around Trace Evidence. Suwanee, GA, USA: D-ABC MME FORENSIC SERVICES.

¹²- SIMÕES, R. (s.d.). Disponível em: [HTTP://appes.com.br/portal/index.php/appes/](http://appes.com.br/portal/index.php/appes/)
Acesso realizado em 16 de outubro de 2013 em Associação dos Peritos Papiloscópicos do Espírito Santo.

¹³-SANTO, G. D. (2011). Disponível em JUS BRASIL: [HTTP://gov-es.jusbrasil.com.br/politica/8315172/policia-tecnico-cientifica-do-espírito-santo-comemora-100-anos](http://gov-es.jusbrasil.com.br/politica/8315172/policia-tecnico-cientifica-do-espírito-santo-comemora-100-anos). Acesso em 16 de outubro de 2013.

¹⁴-FACHONE, P., & VELHO, L. (2007). Ciência Forense: Interseção, Justiça, Ciência e Tecnologia. Tecnologia e Sociedade, 04 (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia da UTFPR).

¹⁵-Disponível em Perícia Oficial ES: www.periciaoficial-es.com.br. Acesso em 14 de outubro de 2013.

¹⁶-LEAL, J.J. (13 de fevereiro de 2006). Disponível em JUS NAVIGANDI [HTTP://jus.com.br/artigos/9091/politica-criminal-e-a-lei-no-11-343-2006](http://jus.com.br/artigos/9091/politica-criminal-e-a-lei-no-11-343-2006). Acesso em 22 de julho de 2013.

¹⁷-PASSAGLI, M. (2009). Toxicologia Forense. São Paulo: Millenium

¹⁸-SILVIA, T.M. (2009). Tese de Doutorado. Campinas – SP, Brasil. UNICAMP.

¹⁹- LIMA, E.C. & SILVA, C.L. (2007). Cabelo como matriz analítica alternativa para a determinação. 82, 156-169. NewsLab.

-
- ²⁰- RANG, H.P. et al (2006).Farmacologia. Rio de Janeiro, RJ, Brasil: ELSEVIER.
- ²¹-ABRAMS,A. (2006). Farmacoterapia Clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- ²²-BRAUN, I. (2007). Drogas-Perguntas e Respostas. São Paulo: MG editores.
- ²³-ENOCH, M. A. & GOLDMAN, D. *Problem Drinking Alcoholism: Diagnosis and Treatment*. Am Fam Physician 2002; 65 441-448.
- ²⁴-SHBAIR, M. & LHERMITE, M. (2010) Ann Pharm Fr. Drug-facilitated crimes: Definitions prevalence difficulties and recommendations. 68, 136-147.
- ²⁵-OBID. Informações sobre drogas (2011). Disponível em: www.obid.senad.gov.br/portais/OBID/. Acesso em: 12 de fevereiro de 2013.
- ²⁶-FERNANDES, F. C.(2010). Cuidando do jardim para virem as borboletas. Um estudo sobre apropriação de espaço. São Paulo - PUC-SP.
- ²⁷ CEBRID, C. B. (2005). II Levantamento Domiciliar sobre o uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil. Estudo sobre as 108 maiores cidade do Brasil. São Paulo: UNIFESP.
- ²⁸-COMPTON, W. M. et al. (2004). Prevalence of Maryjuana use disorders in the United States (1991-1992) and (2001-2002) - JAMA, 291.
- ²⁹-DSM-IV (American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 4. Washington D.C. USA.
- ³⁰-GATLEY, S. & VOLKOW, N. D. (1998). Addictionand imagingof the human living brain. Drug Alcohol Depend. 51, 97-108.
- ³¹ ACETO, M. D., SCATES, S. M. & LOWE, J. A.(1995). *Cannabinoid receptor antagonist SR 141716^a*. European Journal Pharmacol 282, R₁-R₂.

-
- ³² RODRIGUES, F. de Fonseca, CARRERA, M. R. A. & NAVARRO, M.(1997). Activation of corticotropinreleasing factor in the limbic system cannabinoid with drawal.
- ³³ GIGLIOTTI, Analice; LOPES, Cristiane & LARANJEIRA, Ronaldo. (2006). Síndrome de dependência de maconha.
- ³⁴ VANDREY, R. G. et al. (2007). Drug Alcohol Depend.
- ³⁵ FREDERICKS, A. B. & BENOWITZ, N. (1980). An abstinence syndrome following chronic administration of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in rhesus monkeys.
- ³⁶ SMITH, N. T. (2001). A review of the published literature into Cannabis withdrawal symptoms in human users.
- ³⁷ JURUENA, M. F. de Oliveira, et al. (2012). *Abuso e dependência da maconha*. Associação Brasileira de Psiquiatria.Sociedade Brasileira de Cardiologia.
- ³⁸ PERKONIGG, A. et al. (1999). Patterns of Cannabis use, abuse and dependence over time: incidence, progression and stability in sample of 1228 adolescents.
- ³⁹ MOORE, T.H. et al (2007). Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health out comes: a systematic review.
- ⁴⁰ AGRAWAL, A., NURNBERGER, J. Jr & LYNSKEY, M. T. (2011). Bipolar Genome Study. Cannabis involvement in individuals with bipolar disorder.
- ⁴¹ HENQUET, C., KRABBENDAM, L., de GRAAF, R, et al. (2006). Cannabis use and expression of mania in the general population.
- ⁴² De PRADIER, M. et al. (2010). Influence of the serotonin gene phymorphis, Cannabis and chilhood sexual on phenotype of bipolar disorder a preliminary study.

⁴³ CROWLEY, T. J., MACDONALD, M. J., WHITMORE, E. A., et al.(1998). Cannabis dependence withdrawal and reinforcing effects among adolescents with conduct symptoms and substance use disorders.

⁴⁴ UNODC (2013) - United Nations Office On Drugs And Crime – Vienna.

⁴⁵ UNODC 2009 - United Nations Office On Drugs And Crime – Vienna. Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products. Manual for use by national drug analysis laboratories.

⁴⁶ MacRE, E., & SIMÕES , J. A. (2000/2004). *DROGAS: Clínica e Cultura*. RODAS DE FUMO- O uso da maconha em camadas médio urbanas. (AZIZ, I., & SALOMÃO, K., Eds.) Salvador, Bahia, Brasil: EDUFBA/UFBA/CETAD.

⁴⁷ SOUZA, Daniele; MICHELIN, Kátia & HOLLER, Marcelo G. (2006). *Roteiro para Identificação Morfológica da Cannabis sativa L*. Revista Perícia Federal. Ano VII. n°24.

⁴⁸ BRENNEISEIN, R. (2007). *Chemistry and Analysis of Phytocannabinoids and Other Cannabis Constituents*. In: M. A. ElSohly (Ed.). Totowa, New Jersey, EUA: Humana Press.

⁴⁹ TURNER, C. E., ELSOHLY, M. A., & BOEREN, E. G. (1980). *Constituentsof Cannabis sativa L*. XVII. A review of natural constituents. Journal of Natural Products, 43, 169.

⁵⁰ MECHOULAM, R., & BEN-SHABAT, S. (1999). From gan-zi-gun-nu to anandamide and 2—arachidonoylglycerol: The ongoing story of Cannabis. Natural Products reports, 16, 131.

⁵¹ OLIVEIRA, M. F. (2006). Química Forense: A utilização da Química na Pesquisa de Vestígios de Crime. Química Nova na Escola, 17, 17-19.

-
- ⁵² PRADO, A. B. (1963). A maconha. Medicinal Carl, E.F.E. at al.
- ⁵³ MORAES, E. F. – Manual de Toxicologia – 1995- Millenium.
- ⁵⁴ GAHLINGER, P. M. (2001). Illegal Drugs – A Complete Guide to their History, Chemistry, Use and Abuse.
- ⁵⁵ FALCÃO, T. (2008). Um pé de quê ? (filme cinematográfico) Brasil. Disponível em: <http://www.youtube.com/watch?v=HDjkqaeqsAM>. Partes 1, 2 e 3. Acesso em 20 de janeiro de 2013.
- ⁵⁶-Disponível em: itamaraty.gov.br. Acesso em 25 de agosto de 2013.
- ⁵⁷-Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em 11 de março de 2013.
- ⁵⁸-PLANTS DATABASE (2013). Disponível em: plants.usda.gov. Acesso em 22 de julho de 2013.
- ⁵⁹-ELSOHLY, M. A., & SLADE, D. (2005). Chemical Constituents of Maryjuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sciences*, 78, p. 539 a 548.
- ⁶⁰-SHOYAMA, Y., YAGI, M., & YAMAUCHI, T. 1975. Biosynthesis of Cannabinoids Acids. 14, *Phytochemistry*, 2192- Japão.
- ⁶¹-SMITH, R. N.. Identification of butyl cannabinoids in Maryjuana. *Journal Forensic Science*. 42(4), 610-618.
- ⁶² DARINI, M. Soares, M., M. S. R. & CAZENAVE, S.O.S. (2003). Isolamento e Identificação de fungos filamentosos a partir de “Cannabis sativa L.
- ⁶³-BRENNEISEN, R. (1986). Arch. Kriminol. The Cannabinoid content in cannabis products confiscated in Switzerland, 177, 95-104.

⁶⁴-BRENNEISEN, R., & MEYER, P. (s.d.) (2006). *Swisfiling Projects Cannabis Pro*. Suíça: University of Bern and Swiss federal Office of Public Health.

⁶⁵-MILLER, H. C., et AL (2003). *Crost. Med. J. na Overview of DNA Methods for the Identification and Individualization of Maryjuana*, 44, 315-321.

⁶⁶-RIZZI, Christian (2013). Disponível em: www.gazetadopovo.com.br/vidaecidadania/conteudo.phtml?id=1392794. Acesso em: 30 de outubro de 2013.

⁶⁷- Acesso em 15 de dezembro de 2013. Disponível em: www.bbc.co.uk/portuguese/Noticias/2013/12/131210_uruguai_aprova_maconha_mm.s

⁶⁸-NEHER, Clarissa. (2013). Acesso realizado em 15 de dezembro de 2013. Disponível em: [www.dw.de/com=legaliza%a7%ao-da-maconha-uruguaia-cria-pol%aamica-e-chama-aten%a7%a3o-externa/a-17010508,\(2013\)](http://www.dw.de/com=legaliza%a7%ao-da-maconha-uruguaia-cria-pol%aamica-e-chama-aten%a7%a3o-externa/a-17010508,(2013)).

⁶⁹- Acesso em 22 de outubro de 2013. Disponível em: www.growroom.net/2013/10/21/maconha-estatal-do-uruguai-custara-um-dolar-a-grama/.

⁷⁰-Acesso realizado em 08 de janeiro de 2014. Disponível em: [HTTP://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2014/01/140101_maconha_eua_colorado_fn.shtml](http://www.bbc.co.uk/portuguese/noticias/2014/01/140101_maconha_eua_colorado_fn.shtml).

⁷¹-OLIVEIRA, F., AKISUE, G. & AKISUE, M. K.(1998). *Farmacognosia*. São Paulo- Atheneu.

⁷²-EIHA. (2005). Disponível em <http://www.eiha.org/>. Acesso em 22/04/2013. European Industrial Hemp Association (EIHA).

⁷³-CALLAWAY, J. C. (2004). *Hempseed as Nutritional resource: na overview*. *Euphystica*, 140, 65-72.

-
- ⁷⁴-DEFERNE, J. L., & PATE, D. W. (1996). *Hemp seed oil: A source of valuable essential fatty*. Journal of the International Hemp Association, 3, 1, 4-7.
- ⁷⁵-ERASMUS, U. (1999). *Fats that Heal, Fats that Kill*. Alive Books.
- ⁷⁶-KARLER, R., CELY, W. & TURKANIS, S. (1973). *The Anticonvulsant activity of Cannabidiol*. Life Sciences, 13, 1527-1531.
- ⁷⁷-TAMBE, Y., et AL (1996). Gastric Cytoprotection of the Non-steroidal Anti-Inflammatory, β -Caryophyllene. *Planta Médica*, 62 (5), 469-470
- ⁷⁸-FERENCY, L., GRACZA, L. & JAKOBEY, I. (1958). An Antibacterial Preparatum from Hemp. *Naturwissenschaften*, 45, 188.
- ⁷⁹-HOLLEBONE, J.E. (1999). *Plant Protection Import requirements for Hemp, Cannabis sativa*. Cannadian food inspection agency, animal and plant helthdirectorate/Plant protection division. Ontário – Canadá.
- ⁸⁰- REINHARDT, V. E. D. (1993). Aspectos da análise toxicológica forense para identificação de usuários de Cannabis. Dissertação de Mestrado. USP – São Paulo.
- ⁸¹- GONTIJO, B.; BITTENCOURT, F. V.; LOURENÇO, L.F.S. Manifestações cutâneas decorrentes do uso de drogas ilícitas. *An Bras Dermatol*. 2006 81 (4): 307-17
- ⁸²-MORAES, Adriana Silva de. (2013). A importância da terapia cognitivo-comportamental no tratamento psicológico do usuário de maconha, uma revisão de literatura. Departamento de Psiquiatria Hospital das Clínicas-USP. São Paulo.
- ⁸³- UNODC (2012) - United Nations Office On Drugs And Crime – Vienna.
- ⁸⁴- MARTONE, G. & DELLA CASA, E. (1990). *Analysis of the ageing process in hashish samples*. Forensic Acience International, 147-155.

⁸⁵- Disponível em: [HTTP:// marijuana.com.br/tag/haxixe/](http://marijuana.com.br/tag/haxixe/). Acesso em 14 de janeiro de 2013.

⁸⁶ Ikan, Raphael – Department of Organic Chemistry – The Hebrew University of Jerusalem – Israel. Natural Products- A Laboratory Guide 2 edition. Academic Press. 1991.

⁸⁷- Constantino, M. Gomes – Química Orgânica – Curso Básico Universitário Volume 1 LTC – USP 2008 PG 156 A 166.

⁸⁸- COSTA, A. F. (2002). Farmacognosia.

⁸⁹-SILVA, José Luis de Paula Barros. Ressonância não sincronizada em ions não clássicos – Universidade Federal da Bahia – 2004 – Tese de Doutorado – Salvador.

⁹⁰-SOLOMONS, T. W. & FRYLE, Craig B. (2011), Organic Chemistry (10 ed) EUA. John Wiley & Sons.

⁹¹-VEIGA Jr. V. F. & BARRETO, A. D. (2005). Inteligência Vegetal na Arte da Sedução.

⁹²-LABS STA CRUZ 2011. 16/12/2011. Disponível em: www.youtube.com/watch?v=lym3_r3w3py. Santa Cruz Labs. Acesso em 03 de novembro de 2013.

⁹³ ADAMS, R., HUNT, M. & CLARK, J. (1940). Structure of Cannabidiol. A product Isolated from the Marijuana extract of Minnesota Wild Hemp. 62, 196-199. J. AM. Chem. Soc.

⁹⁴-MECHOULAM, R. & SHVO, Y. (1963). *Tetrahedron. The Structure of Cannabidiol.*, 19, 2073-2078

⁹⁵-JONES, P. G. et al (1977). *Cannabidiol*. P 3211-3214.

⁹⁶-MECHOULAN, R. & BEM-SHABAT, S. (2002). Cannabidiol: na overview of some chemical and pharmacological aspects. Part I: Chemical aspects of CPL (Chemical and physics of Lipds, 121, 35-43.

⁹⁷-WOOD, T., SPIVEY, W. & EASTERFIELD, T. (1986). J. Chem. Soc. *Charas: The Resin of Indian Hemp*, 69, 539.

⁹⁸-ADAMS, R., BAKER, B. & WEARN, R. (1940). Journal Chem. Soc. Structure of Cannabinol III. Synthesis of Cannabinol, 1-hydroxy-3-N-amyl-6,6,9-trimethyl-6-dibenzopirano, 62, 2204 – 2207.

⁹⁹-GAONI, Y. & MECHOULAN, R. (1964). *The structure and synthesis of Cannabigerol, a new hashish constituent*. Proc. Chem. Soc., 82. Ral and Phytochemistry, 2189-2192. Japão.

¹⁰⁰-OBATA, Y. & ISHIKAWA, Y. (1966). Constituents of Hemp Plant. Isolation of a Gibbs-positive compound from Japanese Hemp. Agricultural and Biological Chemistry, 30, 619-620.

¹⁰¹ CHAN, W. R., MAGNUS, K. E. & WATSON, H. A. (1976). *The structure of Cannabitrinol*. Experientia, 32 (3), 260-261.

¹⁰²-ULISS, D. B., RAZDAN, R.K. & DALZE, H.C. (1974). Stereospecific Intramolecular Epoxide Cleavage by Phenolate anion. Synthesis of novel and Biologically active Cannabinoids. American Chemical Society, 96 (23), 7372-7374.

¹⁰³-ALVES, A. O., SPANIOL B. & LINDEN, R. (2012) *Cannabinóides sintéticos: drogas de abuso emergentes*. Novo Hamburgo – RS.

¹⁰⁴ A. F. Fentiman, Jr., R. L. Foltz, and G. W. Kinzer. Battelle, Columbus Laboratories, Columbus, Ohio 4320 1. Analytical Chemistry, vol. 45, n. 3. march 1973.

¹⁰⁵- NETO, M. B. Método Absoluto e Geral para a Avaliação Estrutural Direta de Isômeros Constitucionais por Espectrometria de Massas Pentaquadrupolar. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010. 199 p.

¹⁰⁶-ROMÃO, W. *Novas Aplicações da Espectrometria de Massas em Química Forense*. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010. 201 p.

¹⁰⁷-DALMASCHIO, Guilherme Pires. (2012). Caracterização de Compostos Polares no Petróleo por Espectrometria de Massas de Altíssima Resolução e Exatidão – ESI(±)-FT-ICR MS. Dissertação de Mestrado - UFES.

¹⁰⁸-PEREIRA, Thieres Magaive Costa - UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO - Aplicações da Espectrometria de Massas de Ressonância Ciclotrônica de Íons por Transformada de Fourier (FT-ICR MS) em Petroleômica. Dissertação de Mestrado 2013.

¹⁰⁹- MARSHALL, A. G. & SCHEIHARD, L. 1992. Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. Technique Developments. *Journal Mass Spectrometry*.

¹¹⁰-MARSHALL, A. G., HENDRICKSON, C. L. & JACKSON, G. S. (1998). *Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*. *Mass Spectrometry Rev.*, 17 (1), 1-35.

¹¹¹ HITES R. A. (1996). *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Cap 31 – Gas Chromatograph Mass Spectrometry. Indiana, EUA.

¹¹²-CHIARADIA, Mariza C., COLLINS, Carol H. & JARDIM, Isabel C.S.F. (2008) O estado da arte da cromatografia acoplada a Espectrometria de Massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. (UNICAMP, Ed) Química Nova.

¹¹³- KITSON, F. G., LARSEN, B. S. & McEwen, E.N. (1996). *Gas Chromatography and Mass Spectrometry. A Practical Guide*. London U.K.

¹¹⁴ HALKET, John M. et al (jan 2005). *Journal of Experimental Botany*. Chemical Derivatization and Mass Spectral Libraries in Metabolic profiling by CG-MS and LC/MS/MS. 56, (410), 219-243.

¹¹⁵ MASSARTE, D.L. et al (1998). *Handbook Chemometrics and qualimetrics, Part A*. Amsterdã.

¹¹⁶ MARTES, H. & NAES, T. (1989). *Multivariate Calibration*. New York. John Willey & Sons.

¹¹⁷ BRERETON, R. G., *Chemometrics: Data Analysis for the laboratory and chemical plant*. Chinchester: John Willey & Sons

¹¹⁸-SILVA, A. D. & ALVES, M. C. (MAIO 2006). Como iniciar a validação de métodos analíticos. ENQUALAB-2006 – Congresso e Feira da Qualidade e Metrologia.

¹¹⁹-TEÓFILO, R. F. (2013). *Métodos Quimiométricos: Uma visão geral – Conceitos Básicos de Quimiometria*. – Viçosa – MG.

¹²⁰-BORDIN, D. C. et al (2012). *Análise Forense: Pesquisa de drogas Vegetais Interferentes de Testes Colorimétricos para Identificação dos Cannabinóides da Maconha (Cannabis sativa L.)*. Química Nova na Escola, 35 n° 10, 2040-2043.

¹²¹-KAWAMURA, Takao. (2002). Interpretação de um teste sob a visão epidemiológica. Eficiência de um teste, 79, 4, 437-441.

¹²² DUSSY, F. E. et al. *Isolation of a Δ^9 -THCA-A from hemp and analytical aspects concerning the determination of Δ^9 -THC in Cannabis Products*. Forensic Science International, 3, 149.

¹²³-JUNG, J., et al.(09 de JULHO de 2009). *Studies on the metabolism of the THCA-A in rat using lc-ms/ms, lc-qtof ms and gc-ms techniques*. JOURNAL MASS SPECTROMETRY .

¹²⁴-YAMAUCHI, T., et al (1967). *Tetrahydrocannabinolic acid, a genuine substance of tetrahydrocannabinol*. CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN , 15, 1075.

¹²⁵ SHOYAMA, Y., et al (1977). *The Isolation and Structures of four new propyl cannabinoid acids, Tetrahydrocannabivarinic acid, Cannabivarinic acid, Cannabichromevarinic acid and Cannabigerovarinic acid, from Thai Cannabis, "Meao Variant"*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 29, 3720-3723.

¹²⁶ RAZDAN, R. K., et al. (1972). *Hashish VI: Conversion of (-)-1(6)-tetrahydrocannabinol to (-)1(7)-Tetrahydrocannabinol. Satability of (-)-1-and (-)1(6)tetrahydrocannabinol*. Experientia, 28, 121.

¹²⁷ JONES, P. G., et al (1977). *Cannabidiol*. pp. 3211 – 3214.

¹²⁸-BRENNEISEN, R. (2007). *Chemistry and Analysis of Phytocannabinoids and Other Cannabis Constituents*. In: M. A. EISohly (Ed.). TOTOWA, NEW JERSEY, EUA: HUMANA PRESS.

-
- ¹²⁹ NOVOTNY, M., et al (1982). *Fractionation and capillary gas chromatographic-mass spectrometric characterization of the neutral components in marijuana and tobacco smoke condensates*. Journal Chromatography. Analytic chemistry , 238, 141-150.
- ¹³⁰-GROTE, H., & SPITELLER, G. (1978). *New Cannabinoids. The structure of cannabicooumaronone and analagous compounds*. Tetrahedron , 34, 3207 - 3213.
- ¹³¹- DE ZEEUW, R. A.,et al.(1973). *Cannabivarichromene with a propyl side chain in Cannabis*. EXPERIENTIA , 29 (3), 260-261.
- ¹³² FRIEDRICH-FIECHTL, J., & SPITELLER, G. (1975). *New Cannabinoids*. Tetrahedron , 31, 479-487.
- ¹³³ ELSOHLY, H. N., et al.(1984). *Constituents of cannabis sativa I. Cannabitetrol, a new polyhydroxylated cannabinoid*. Chemical, Pharmacologic and Therapeutic aspects , 89-96.
- ¹³⁴ HARVEY, D. J. (1976). *Characterization of the butyl homologs of thc, cannabinol and cannabidiol in samples of cannabis by combined gas chromatography and mass spectrometry*. Journal of Pharmacy and Pharmacology , 28, 280- 285.
- ¹³⁵ JUNG, J., et al.(09 de JULHO de 2009). *Studies on the metabolism of the THCA-A in rat using lc-ms/ms, lc-qtof ms and gc-ms techniques*. JOURNAL MASS SPECTROMETRY .
- ¹³⁶-BROECKER, S., & PRAGST, F. (2012). *Isomerização de cannabidiol e d-9-thc durante a ionização electrospray positivo. Na fonte de hidrogênio/deutério experimentos de câmbio por injeção em fluxo híbrido quadrupolo-tempo-de-vôo ms*. Rapid Communications in Mass Spectrometry , 26, 1407 - 1414.