

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA PLANTA *CANNABIS SATIVA* L. A  
PARTIR DE SEMENTES APREENDIDAS PELA POLÍCIA FEDERAL  
NO ESTADO DO RIO GRANDE D SUL**

BRUNA TASSI BORILLE

Porto Alegre, 2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA PLANTA *CANNABIS SATIVA* L. A  
PARTIR DE SEMENTES APREENDIDAS PELA POLÍCIA FEDERAL  
NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

Tese apresentada por **Bruna Tassi Borille**  
para obtenção do TÍTULO DE DOUTOR em  
Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dr. Renata Pereira Limberger  
Co-Orientador: Dr. Rafael Scorsatto Ortiz

Porto Alegre, 2016

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 20.10.2016, pela banca examinadora constituída por:

*Profa. Dr. Miriam Apel*

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

*Prof. Dr. Marco Flôres Ferrão*

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

*Prof. Dr. Wanderson Romão*

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo

#### CIP - Catalogação na Publicação

Borille, Bruna Tassi

Caracterização química da planta Cannabis sativa L. a partir de sementes apreendidas pela Polícia Federal no estado do Rio Grande do Sul / Bruna Tassi

Borille. -- 2016.

230 f.

Orientador: Renata Pereira Limberger.

Coorientador: Rafael Scorsatto Ortiz.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. Cannabis sativa L.. 2. Caracterização química. 3. Perfil químico. 4. Quimiometria. I. Limberger, Renata Pereira, orient. II. Ortiz, Rafael Scorsatto, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## **APOIO FINANCEIRO**

**CNPq** – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

**CAPES** – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.



**Aos meus irmãos.**

*“Seja legal com seus irmãos. Eles são a melhor ponte com o seu passado e possivelmente quem vai sempre mesmo te apoiar no futuro”.*

*(Pedro Bial)*

**Aos meus pais.**

*“Os nossos pais amam-nos porque somos seus filhos, é um fato inalterável. Nos momentos de sucesso, isso pode parecer irrelevante, mas nas ocasiões de fracasso, oferecem um consolo e uma segurança que não se encontram em qualquer outro lugar”.*

*(Bertrand Russell)*





## **AGRADECIMENTOS**

A minha gatinha, a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma, mesmo que a mais singela, para o meu crescimento científico e também pessoal.

Em especial, agradeço a minha família: pelo apoio e amor incondicional de sempre; e, à minha orientadora, Renata Pereira Limberger, e ao meu co-orientador, Rafael Scorsatto Ortiz: sou o fruto da confiança de vocês para a realização deste trabalho.



*“O começo de todas as ciências é o espanto  
de as coisas serem o que são”.*

*(Aristóteles)*



## RESUMO

A *Cannabis sativa* L. (canábis) contém centenas de substâncias químicas em diferentes classes, contudo, a classe dos canabinoides é encontrada unicamente nesta espécie. Popularmente conhecida como maconha, a canábis é a droga ilícita mais consumida no mundo, sendo o  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC), o principal canabinoide de interesse toxicológico, por ser o responsável pela maioria dos efeitos psicotomiméticos ocasionados e estar associado ao uso abusivo da planta. De outro modo, há alguns anos, vem crescendo significativamente o interesse em pesquisas científicas com a canábis, devido aos importantes efeitos terapêuticos que alguns canabinoides têm apresentado. O canabidiol (CBD), por exemplo, é um canabinoide que além de modular os efeitos eufóricos do  $\Delta^9$ -THC, tem apresentado importantes atividades farmacológicas. Embora haja um crescente aumento nas toneladas de apreensões de canábis realizadas no Brasil, não existem dados que caracterizem o perfil químico e a potência da droga que é utilizada ilegalmente no país. Outro aspecto singular com relação às apreensões de canábis refere-se à nova forma de tráfico internacional de drogas, que vem crescendo significativamente no país. Trata-se da remessa de sementes de canábis em pequenas quantidades através de empresas de transporte. Desta forma, este estudo foi realizado a partir de sementes de canábis apreendidas pela Superintendência de Polícia Federal no Rio Grande do Sul. As sementes foram germinadas e as plântulas foram cultivadas, secas e analisadas, sendo todos os passos em condições controladas. As metodologias analíticas utilizadas foram: espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS), espectrometria de massas por ressonância ciclôtrica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR MS) e cromatografia à gás com detector de massas (CG/EM). O elevado número de compostos presente nas plantas torna os dados obtidos muito complexos, onde pequenas diferenças entre amostras podem ser negligenciadas. Por isso, foram utilizadas as seguintes ferramentas quimiométricas: HCA, PCA, PLS-DA e SVM-DA. As diferentes metodologias de análise utilizadas neste trabalho, permitiram a análise de um total de 73 amostras de canábis que forneceram dados sob químicos, bem

como aspectos distintos e relevantes em toxicologia. As informações obtidas por NIRS associadas às ferramentas quimiométricas HCA e PCA possibilitaram agrupar 29 amostras de canábis em diferentes períodos de crescimento; e as ferramentas quimiométricas PLS-DA e SVM-DA permitiram classificar 29 amostras de canábis em diferentes períodos de crescimento com 100% de acerto. O altíssimo poder de resolução da FT-ICR MS possibilitou a identificação 123 compostos canabinoides e metabólitos a partir das análises realizadas em 73 amostras de canábis, o que resultou na compilação de um abrangente perfil químico de canabinoides, até então não obtido. A eficiência de separação da CG acoplada à identificação dos compostos utilizando EM tornou possível a diferenciação de 73 amostras de canábis em tipo fibra ou tipo droga, além da caracterização do perfil químico de canabinoides e terpenoides presentes nas amostras, obtido pela análise em CG/EM. Desta forma, os dados gerados com o desenvolvimento desta tese possibilitaram a identificação e o conhecimento do perfil químico de amostras de canábis apreendidas no Brasil, apresentando informações até então desconhecidas pela polícia brasileira, bem como pelos profissionais da saúde, comunidade científica, órgãos governamentais e políticos do país e também para a população em geral.

**Palavras-chave:** *Cannabis sativa*, caracterização química, canabinoides, terpenoides, períodos de crescimento, quimiometria.

## ABSTRACT

*Cannabis sativa* L. (cannabis) contains hundreds of different classes of chemicals, however, the class of cannabinoids is found only in this plant. Popularly known marijuana, cannabis is the most used illicit drug worldwide, and the  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC), the main cannabinoid regarding toxicological interest, being responsible by the majority of psychotomimetic effects and it is associated with the abuse of the plant. Otherwise, for a few years has grown significantly the interest and scientific research with cannabis due to significant therapeutic effects that certain cannabinoids have shown. The cannabidiol (CBD), for example, is a cannabinoid which in addition to modulate the euphoric effects of  $\Delta^9$ -THC, it has shown significant pharmacological activity. Although there is a growing increase in tons of cannabis seizures conducted in Brazil, there are no data which characterize the chemical profile and potency of the drug that is illegally used in the country. Another unique aspect regarding cannabis seizures refers to the new form of international drug trafficking that has grown significantly in the country. This is the shipment of cannabis seeds in small quantities by transportation companies. Thus, this study was based on samples from cannabis seeds seized by the Superintendence of the Federal Police in Rio Grande do Sul. The seeds were germinated and the seedlings were grown, dried and analyzed, all of the steps under controlled conditions. The analytical methods used were: near infrared spectroscopy (NIRS), Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FT-ICR MS) and gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS). The high number of compounds presente in plants renders them very complex data set, where small differences between samples may be wasted. Therefore, the following chemometric tools were used: HCA, PCA, PLS-DA and DA-SVM. The different methods of analysis used in this study allowed the analysis of a total of 73 samples of cannabis that provided data on chemical and distinct and relevant aspects in toxicology. Information obtained by NIRS chemometric tools associated with HCA and PCA group allowed 29 samples of cannabis in different periods of growth; and chemometric tools PLS-DA and SVM-DA can be classified 29

samples of cannabis in different periods of growth with 100% accuracy. The very high resolution power of FT-ICR MS possible to identify 123 compounds cannabinoids and metabolites from the analyzes carried out on 73 samples of cannabis, which resulted in the compilation of a comprehensive chemical profile of cannabinoids, has not been surpassed. The GC separation efficiency coupled with the identification of compounds using MS made it possible to differentiate 73 cannabis samples in type or fiber type drug, besides the characterization of the chemical profile of cannabinoids and terpenoids present in the samples obtained through the analysis on GC/MS. Thus, the data generated with the development of this thesis allowed the identification and knowledge of the chemical profile of cannabis samples seized in Brazil, presenting information previously unknown to Brazilian police as well as by health professionals, the scientific community, government agencies and politicians of the country and also to the general population.

**Keywords:** *Cannabis sativa*, chemical characterization, cannabinoids, terpenoids, period of growth, chemometrics.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Número de Laudos de “semente de maconha” emitidos anualmente pelos setores de criminalística da Polícia Federal.....	25
Figura 2 Imagens de propagandas e de frasco de tintura de canábis comercializada antigamente na América do Norte. ....	36
Figura 3 Imagens de propagandas de divulgação do filme estadunidense Reefer Madness, divulgado nos Estados Unidos entre os anos 1936 a 1939.....	37
Figura 4 Aspectos morfológicos da Cannabis sativa L.....	41
Figura 5 Sementes de canábis apreendidas pela Polícia Federal no Estado do Rio Grande do Sul.....	42
Figura 6 Plântula de canábis em fase vegetativa do ciclo de crescimento, com 30 dias de crescimento, proveniente de semente apreendida pela Polícia Federal no Estado do Rio Grande do Sul. ....	43
Figura 7 Fotoperiodismo de uma planta de dia curto que apresenta fotoperíodo crítico de 15 horas. ....	44
Figura 8 Floração da planta de dia curto, planta de dia longo e planta neutra, conforme três situações de fotoperiodismo distintos. ....	45
Figura 9 Inflorescência de planta feminina (A1 e A2) e inflorescência de planta masculina (B1 e B2) de canábis, proveniente de semente apreendida pela Polícia Federal no Estado do Rio Grande do Sul. ....	46
Figura 10 Tricomas glandulares presente nas inflorescências de planta feminina de canábis, proveniente de semente apreendida pela Polícia Federal no Estado do Rio Grande do Sul. ....	49
Figura 11 Esquema básico da biossíntese vegetal dos principais canabinoides C21 presentes na Cannabis sativa L.....	51
Figura 12 Esquema básico da biossíntese vegetal dos principais canabinoides C19 presentes na Cannabis sativa L.....	52
Figura 13 Diferentes sistemas de numeração dos canabinoides. ....	53
Figura 14 Processo de ionização por ESI. ....	76
Figura 15 Dendrograma formado por dez amostras, usando as menores distâncias entre os grupos como critério de agrupamento. ....	80

Figura 16 Representação gráfica de três grupos de amostras projetadas na componente principal (PC) 1 e 2. ....	82
Figura 17 Representação gráfica dos resultados da classificação para o modelo PLS-DA. Estão incluídos: o limite entre as classes (0,0515) e os valores originalmente atribuídos a cada uma delas (+1 e -1). ....	84
Figura 18 Princípio da Máquina de vetores de suporte. ....	86

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
2. OBJETIVOS.....	29
2.1 Objetivo geral.....	31
2.2 Objetivos específicos .....	31
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	33
.....	34
3.1 Histórico .....	35
3.2 <i>Cannabis sativa</i> L.....	39
3.2.1 Botânica.....	39
3.2.2 Constituintes químicos.....	47
3.2.3 Biossíntese dos canabinoides .....	49
3.2.4 Classes dos canabinoides .....	54
3.3 Quimiotipos .....	63
3.4 Nomenclaturas .....	64
3.5 Legislação .....	67
3.5.1 Legislação internacional .....	67
3.5.2 Legislação brasileira .....	68
3.6 Métodos de análise química .....	71
3.6.1 Espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) .....	71
3.6.2 Cromatografia à gás (CG).....	72
3.6.3 Espectrometria de massas (EM).....	73
3.6.3.1 Espectrômetro de massas por ressonância ciclôtrica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR MS).....	74
3.6.4 Ionização por eletrospray (ESI) .....	76
3.7 Métodos quimiométricos .....	77

3.7.1 Métodos não supervisionados .....	79
3.7.1.1 Análise por agrupamentos hierárquicos (HCA) .....	79
3.7.1.2 Análise por componentes principais (PCA) .....	81
3.7.2 Métodos supervisionados .....	82
3.7.2.1 Análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA).....	83
3.7.2.2 Análise discriminante por máquina de vetores de suporte (SVM-DA) .	85
4. CAPÍTULO 1: Cannabis sativa: A systematic review of plant analysis .....	87
4.1 Manuscrito 1.....	88
5. CAPÍTULO 2: Near infrared spectroscopy combined with chemometrics for growth stage classification of Cannabis cultivated in a greenhouse from seized seeds 121	
5.1 Manuscrito 2.....	122
6. CAPÍTULO 3: Cannabis seizure in Brazil: cannabinoids- and terpenoids profile, fibre- or drug type .....	141
6.1 Manuscrito 3.....	142
7.CAPÍTULO 4: Chemical Profiling and Classification of Cannabis through Electrospray ionization coupled to Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry and Chemometrics .....	167
7.1 Manuscrito 4.....	168
8. DISCUSSÃO GERAL .....	203
9. CONCLUSÕES .....	213
11. REFERÊNCIAS.....	217

## **1. INTRODUÇÃO**



*Cannabis sativa* L. (canábis) é um gênero monotípico pertencente à família Cannabaceae, tendo apenas uma única espécie reconhecida, com suas variedades e subespécies (Small e Cronquist, 1976; UNODC, 2009; Small, 2015). Popularmente conhecida como maconha a canábis é uma das plantas mais antigas de que o homem tem conhecimento, com relatos de uso de mais de 12.000 anos na Ásia Central (Small e Marcus, 2002; Pain, 2015) e posteriormente na China, onde foi mencionada na Farmacopeia Chinesa em torno de 2.700 a.C. (Zuardi et al., 2006; Pain, 2015). Da China, ela se espalhou para o oeste da Ásia até o Egito e logo em seguida chegou a Europa Ocidental. Na América, a planta foi introduzida juntamente com a vinda dos colonizadores espanhóis (Zuardi, 2006; Small e Marcus, 2002; Pain, 2015), estando difundida em todos os continentes do mundo. A canábis provavelmente é a planta mais conhecida e controversa mundialmente, pois embora apresente propriedades terapêuticas (Small, 2015), é considerada historicamente a droga ilícita, sob controle internacional, mais consumida no mundo (UNODC, 2016; WHO, 2016).

Devido à sua associação com o crime, durante o século XX praticamente todas as pesquisas e desenvolvimento envolvendo a planta, relacionados aos seus aspectos narcóticos e não narcóticos, foram suprimidos (Small, 2015). Atualmente, o extrato da canábis e/ou os canabinoides presentes na planta vem sendo amplamente estudados e utilizados para o tratamento das mais diversas doenças como HIV/AIDS, dor crônica, glaucoma, asma, esclerose múltipla e no manejo de tratamentos quimioterápicos, exercendo funções paliativas reduzindo náusea, vômito e dor e estimulando o apetite (Hazekamp et al., 2006; Romano e Hazekamp, 2013; Aizpurua-Olaizola et al., 2014; Radwan et al., 2015), muitas vezes sem respaldo científico ou com formas e padrões de uso questionáveis. Estudos científicos fornecem dados de que o uso regular da canábis, principalmente em pacientes jovens com idade inferior aos 20 anos, pode resultar em déficits cognitivos além de estar fortemente relacionado a desordens psiquiátricas e aumento significativo da probabilidade de vir a desenvolver problemas com o uso da droga, uma vez que o sistema neurológico ainda se encontra em formação, tendo seu centro de prazer (Núcleo *accumbens* e área tegumentar ventral) altamente desenvolvido e a região de juízo crítico (córtex pré-frontal) ainda em desenvolvimento e maturação. Além disso, apesar dos efeitos neurocognitivos devido ao uso prolongado da canábis em adultos ainda serem inconsistentes, sabe-se que em pacientes com desordens psicóticas estabelecidas, os canabinoides podem

exacerbar os sintomas e apresentar consequências negativas no curso da doença. Quanto mais precoce a idade de contato com a canábis, em quaisquer de suas apresentações, maior é a probabilidade de desenvolvimento de dependência, problemas reprodutivos, neurológicos, imunológicos, entre outros danos irreversíveis que perduram na vida adulta, podendo levar a prejuízos funcionais limitantes, principalmente do ponto de vista produtivo, social e familiar (Aizpurua-Olaizola et al., 2014; Bally et al., 2014; Lisdahl et al., 2014; Radhakrishnan et al., 2014).

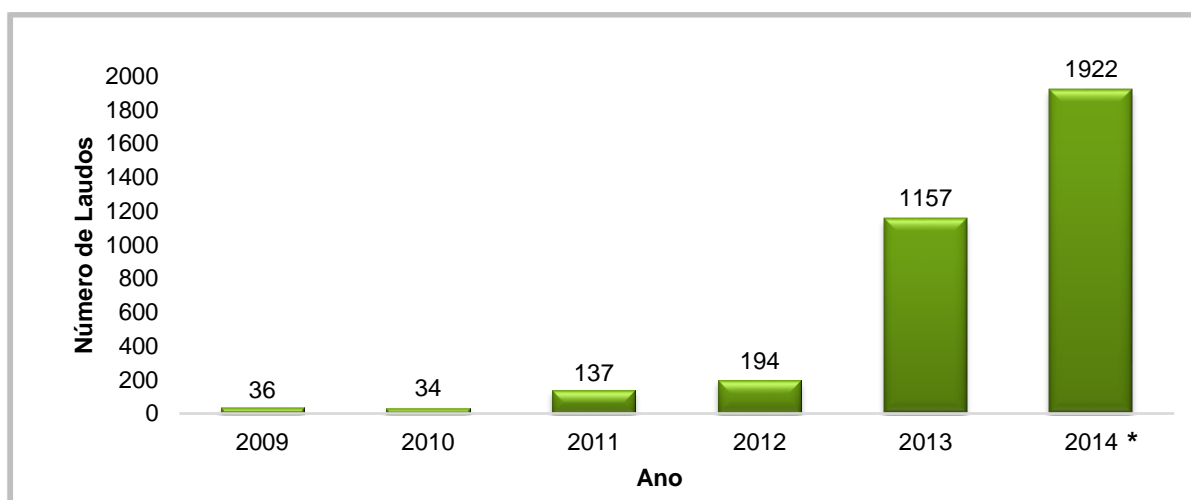
O Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC) estima que, globalmente, em 2014 cerca de 183 milhões de pessoas com idade entre 15-64 anos fizeram uso da planta para fins não médicos (UNODC, 2016; WHO, 2016). Concomitante ao crescente número de usuários, há também uma crescente e preocupante demanda por tratamento de transtornos e problemas de saúde relacionados com o uso de canábis em países de alta e média renda, além do aumento da atenção em diálogos políticos internacionais sobre os impactos na saúde pública relacionados ao consumo de canábis e transtornos relacionados (WHO, 2016). Ao longo da década de 2000, a Austrália, um dos países com uma das mais altas taxas de uso de canábis, apresentou aumento na ocorrência de indicadores populacionais de danos relacionados à canábis, incluindo internações hospitalares por psicose induzida pela utilização da planta e problemas relacionados com a dependência (Swift et al., 2013).

Um fator importante a ser considerado é que nas últimas décadas o aumento da potência da canábis foi observado em diferentes estudos realizados no Reino Unido, Europa, Estados Unidos, Nova Zelândia e Austrália (Mehmedic et al., 2010; Cascini, Aiello e Di Tanna, 2012; De Backer et al., 2012; Swift et al., 2013; UNODC, 2016; WHO, 2016). Em se tratando da América do Sul, embora o relatório da UNODC (2016) apresente dados de aumento de apreensões de canábis, devido a importantes apreensões realizadas no Paraguai, Colômbia e Brasil (UNODC, 2015), atualmente não há dados na literatura científica com relação ao perfil químico e a potência da canábis apreendida nesta área. Além disso, é importante ressaltar que, embora o Brasil tenha realizado operações para erradicar a planta no Paraguai e no Nordeste do próprio país, em 2013 cerca de 222 toneladas de canábis foram apreendidas em território nacional (UNODC, 2015).



Embora haja um crescente aumento nas toneladas de apreensões de canábis realizadas no Brasil, anteriormente à realização deste trabalho havia completa falta de conhecimento com relação aos constituintes químicos presentes nessa droga ilícita, que é extensiva e ainda incontroladamente utilizada no país. Outro aspecto singular com relação às apreensões de canábis refere-se à nova forma de tráfico de drogas, que vem crescendo significativamente no Brasil. Trata-se da remessa de sementes da planta em pequenas quantidades através de empresas de transporte. A circulação ilegal das sementes de canábis é considerada tráfico internacional de drogas, segundo a Polícia Federal (PF) e o Ministério Público Federal (MPF). Dados fornecidos pela PF relacionados às de apreensões de sementes de canábis são apresentados na Figura 1. A compilação do banco de dados foi obtida através de busca textual de laudos, no Sistema de Criminalística do Departamento de Polícia Federal (INC/DPF), com o termo “sementes de maconha”, emitidos pelos setores de criminalística da PF no Brasil. Em 2009 foram emitidos 36 relatórios forenses, também denominados laudos de perícia criminal federal, relativos a apreensões de sementes de canábis pela Polícia Federal (PF) enquanto que em seis meses do ano de 2014, o número de relatórios aumentou para 1922, representando um aumento de 6.088,9% nas apreensões de sementes de canábis em cinco anos (Polícia Federal, 2014). Por isso, para produzir as informações contidas neste estudo, foram utilizadas sementes de canábis apreendidas pela PF.

**Figura 1** Número de Laudos de “semente de maconha” emitidos anualmente pelos setores de criminalística da Polícia Federal.



Fonte: Polícia Federal (2016). \* No ano de 2014 o período é de 01/01/2014 a 30/06/2014.

O Brasil é o maior país da América do Sul, tendo mais de 15.000 km de fronteiras continentais e sua fronteira terrestre representando cerca de 68% de toda a extensão dos limites territoriais brasileiros. A extensa área de fronteira terrestre coloca o Brasil em contato com dez outras nações sul-americanas. Com exceção do Chile e do Equador, todos os países da América do Sul fazem fronteira com o Brasil, sendo eles: Ao norte: Suriname, Guiana, Venezuela e um território pertencente à França, a Guiana Francesa; A noroeste: Colômbia; A oeste: Peru e Bolívia; A sudoeste: Paraguai e Argentina; e ao sul: Uruguai (Decicino, 2013).

Além do Paraguai ser um dos maiores produtores de canábis da América Latina, e vender a maior parte do que produz a traficantes brasileiros (Polícia Federal, 2014), atualmente, outra questão muito importante a ser considerada trata-se da legalização da utilização da canábis para qualquer finalidade no Uruguai, sem ser especificado nem mesmo a quantidade ou limite de uso pessoal. A nova legislação uruguaia determina apenas que os compradores devam ter 18 anos de idade ou mais, serem residentes do país, e que devam se registrar com as autoridades nacionais (Daily News, 2014; Wikipedia, 2016). Sendo assim, considerando o fácil acesso da canábis no país, as possíveis fragilidades no controle da compra e venda da mesma para estrangeiros, e que este país faz fronteira seca com o Brasil, mais especificamente, com o estado do Rio Grande do Sul, configura-se a maior facilidade de entrada da droga no Brasil via fronteira com o Uruguai.

As várias portas de entrada presentes no Brasil tornam o combate ao tráfico de drogas no país uma tarefa árdua, na qual a inteligência forense busca cada vez mais ferramentas que auxiliem a identificação de rotas de tráfico, vínculos entre o perfil da droga e as regiões nas quais estas foram apreendidas além da identificação da origem da droga.

Perfil químico trata-se de um perfil característico, o qual representa uma amostra quimicamente, onde a caracterização das amostras não é encontrada somente nos compostos principais, mas também nos compostos de baixa concentração (Alaerts et al., 2014). Desde então, métodos cromatográficos são recomendados para o desenvolvimento do perfil químico de plantas e suas preparações em todo o mundo (Zhang et al., 2005; Tang, 2010; Alaerts et al., 2014). Em investigações forenses, o perfil químico apresenta-se como uma poderosa ferramenta para identificação de autenticidade, diferenciação de origem e avaliação

da qualidade das plantas e em relação aos seus produtos acabados (Zhang et al., 2005; Deng e Yang, 2013).

As técnicas analíticas utilizadas para análise do perfil químico devem ser de preferência de alto rendimento/produtividade, referindo-se a métodos rápidos, gerais e adequados para determinar diferenças e possibilitar a classificação das amostras. Assim, devido à impressão digital química envolver um número muito maior de analitos em relação ao perfil químico (Halket et al., 2005; Deng e Yang, 2013) alguns aspectos relevantes que os métodos devem possuir são: a capacidade de fornecer o máximo de informações em nível molecular; a capacidade de fornecer monitoramento rápido, ausência de contaminações cruzadas e efeito residual; e alta sensibilidade e seletividade para a detecção de vestígios de componentes em matrizes complexas (Deng e Yang, 2013).

Devido à complexidade dos dados de extratos de plantas (Kong et al., 2009; Alaerts et al., 2014), atualmente métodos quimiométricos são ferramentas que possibilitam tratar e interpretar conjuntos de dados químicos (Alaerts et al., 2014; Galea, Mangelings e Heyden, 2015). No Brasil estas ferramentas de análise exploratória de dados, apesar de ainda serem recentes na área farmacêutica e forense, já vêm sendo utilizadas em casos de apreensões de cocaína (Zacca et al., 2013; Anzanello et al., 2015; Marcelo et al., 2015) e falsificação de medicamentos (Ortiz, 2013).

Neste contexto, este estudo objetivou a realização de um estudo de caracterização química da planta *Cannabis sativa* L. As amostras foram obtidas a partir de sementes apreendidas no estado do Rio Grande do Sul, pelo Departamento da Polícia Federal do estado. As sementes participantes do estudo foram germinadas, cultivadas e analisadas em condições controladas tanto de cultivo como de análises. Para a realização das análises químicas do estudo, as seguintes metodologias analíticas foram utilizadas: espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS), espectrometria de massas por ressonância ciclôtrica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR MS) e cromatografia à gás com detector de massas (CG/EM). Adicionalmente, a fim de explorar métodos empregados para classificação, identificação de autenticidade e diferenciação da origem das amostras, aos dados obtidos por NIRS foram aplicadas as ferramentas quimiométricas: análise por agrupamentos hierárquicos (HCA), análise por componentes principais (PCA), análise

discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e análise discriminante por máquina de vetores de suporte (SVM-DA); e, aos dados obtidos por FT-ICR MS foram aplicadas as ferramentas quimiométricas: PCA, PLS-DA e importância da variância na projeção (VIP).

## **2. OBJETIVOS**



## 2.1 Objetivo geral

Analisar amostras de *Cannabis sativa* L. (canábis) a partir de sementes apreendidas pela Superintendência de Polícia Federal no Rio Grande do Sul, por diferentes técnicas analíticas e quimiométricas.

## 2.2 Objetivos específicos

- ♣ Revisar metodologias disponíveis (2010 – agosto de 2016) na literatura científica para análise de canábis;
- ♣ Classificar amostras de canábis em diferentes períodos de crescimento utilizando NIRS e HCA, PCA, PLS-DA e SVM-DA;
- ♣ Determinar o perfil químico de canabinoides e terpenoides em amostras de canábis utilizando CG/EM;
- ♣ Classificar amostras de canábis em tipo droga ou tipo fibra utilizando CG/EM;
- ♣ Determinar o perfil químico de canabinoides em amostras de canábis utilizando FT-ICR MS;
- ♣ Classificar amostras de canábis em diferentes períodos de crescimento utilizando FT-ICR MS e PCA e PLS-DA.





### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**



### 3.1 Histórico

Os primeiros registros de histórico do uso de canábis como fonte de fibras e grãos datam de cerca de 12000 anos atrás, na Ásia Central (Small e Marcus, 2002; Pain, 2015). Posteriormente os chineses descobriram e desenvolveram inúmeras formas de uso da planta, na fabricação de cordas, artefatos de decoração, produção de papéis bem como na alimentação e uso recreacional (Zuardi, 2006; Balbino, 2014). O primeiro uso reportado da canábis como medicamento, atribuído ao imperador chinês Shen Nung, ocorreu em torno de 2700 a.C. Seus ensinamentos foram transmitidos de boca em boca até serem registrados por escrito no primeiro livro de agricultura e plantas medicinais do mundo, *Shen Nung Pen-Ts'ao Ching* (Zuardi et al., 2011; Pain, 2015).

Por volta de 500 d.C. a planta foi introduzida no oeste da Ásia, no Egito e logo em seguida na Europa Ocidental, onde seu cultivo tornou-se generalizado, sendo utilizada naquela época, na Europa, exclusivamente para produção de fibras (Zuardi, 2006; Small e Marcus, 2002; Pain, 2015). Em 1545 colonizadores espanhóis introduziram a canábis na América do Sul, no Chile, inicialmente para o cultivo de fibras. Na América do Norte a planta foi levada pelos colonos ingleses em 1606, tornando-se um importante tipo de cultivo na região (Zuardi, 2006; Small e Marcus, 2002; Pain, 2015).

Acredita-se que no Brasil a canábis tenha sido introduzida simultaneamente com a descoberta do país, trazida pelas caravelas portuguesas e navios que transportavam os escravos africanos durante a fase colonial. Com o passar dos anos o uso recreativo da planta disseminou-se entre os escravos negros, avançando ao uso também pelos índios, que posteriormente iniciaram o cultivo da canábis no país (Carlini, 2006; Balbino, 2014).

Devido ao seu interesse pela medicina moderna, em 1839 o médico irlandês William Brooke O'Shaughnessy investigou o uso da canábis na Índia, onde observou seu uso como narcótico e também com finalidade medicinal (Mecholaum et al., 2014; Pain, 2015). Após realizar testes em animais e humanos, doutor O'Shaughnessy iniciou tratamento de doenças como cólera, convulsões infantis e tétano a partir de tintura de canábis (Figura 2) (Zuardi, 2006; Pain, 2015). A propagação da planta não

apenas no Brasil, mas mundialmente, ocorreu inicialmente por meio das suas indicações terapêuticas, sendo um dos três medicamentos de maior prescrição ao longo do século XIX (Figura 2) (Carlini, 2006; Balbino, 2014).

**Figura 2** Imagens de propagandas e de frasco de tintura de canábis comercializada antigamente na América do Norte.



Fonte: Adaptado de [https://www.google.com.br/search?q=dr+poppy+cannabis&espv=2&biw=1366&bih=643&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiY\\_uh7rnOAhURPJAKHVtYDxoQ\\_AUICCgD#tbn=isch&q=old+cannabis+medicine+bottles](https://www.google.com.br/search?q=dr+poppy+cannabis&espv=2&biw=1366&bih=643&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiY_uh7rnOAhURPJAKHVtYDxoQ_AUICCgD#tbn=isch&q=old+cannabis+medicine+bottles) (2016).

Anos mais tarde, em 1899, químicos Britânicos isolaram o canabidiol, sendo este o primeiro canabinoide identificado da planta. Com o decorrer dos avanços na área de química, tornou-se possível sintetizar e isolar substâncias ativas de plantas medicinais (Mecholaum et al., 2014; Pain, 2015). No início do século XX (1924) a enciclopédia *Sajous's Analytic Cyclopedia of Practical Medicine* apresentava indicações médicas para utilização da canábis para várias enfermidades de três diferentes áreas: sedativo ou hipnótico; analgésico; ou, outros usos nas mais diversas doenças, por exemplo, diarreia, diabetes, palpitação cardíaca e vertigem (Zuardi, 2006). Nos anos seguintes, entre 1932 a 1963, o canabidiol foi novamente isolado, sua estrutura foi elucidada e pesquisas farmacológicas foram iniciadas (Mecholaum et al., 2014; Pain, 2015).

Por outro lado, no mesmo período iniciou-se também a implantação de uma série de restrições legais com relação ao uso médico e experimental da canábis em vários países (Carlini, 2006; Zuardi, 2006). Na década de 1930 medidas de repressão com relação ao uso da planta foram intensificadas no Brasil. Possivelmente essas medidas surgiram no país, pelo menos em parte, devido ao posicionamento do delegado brasileiro Pedro Pernambuco Filho na II Conferência Internacional do Ópio, realizada em 1924, em Genebra, pela antiga Liga das Nações. Foi no ano de 1938,

através do Decreto-Lei nº 891 do Governo Federal, que ocorreu a proibição total do plantio, cultura, colheita e exploração por particulares da planta em território nacional (Carlini, 2006; Balbino, 2014).

Com a aplicação da “Lei do Imposto de *Marihuana*” aprovada em 1937, a partir de 1938, acabou a produção de canábis nos Estados Unidos (Small e Marcus, 2002; Balbino, 2014). Segundo esta lei, qualquer pessoa que quisesse fazer uso da planta, tanto para fins medicinais como para outras formas de uso, eram obrigadas a pagar taxas, sob a pena de multas e/ou prisão caso não fosse feito o pagamento do imposto (Zuardi, 2006). Ainda, um filme de propaganda estadunidense chamado *Reefer Madness*, originalmente nomeado *Tell Your Children* e também intitulado *The Burning Question*, *Dope Addict*, *Doped Youth*, ou *Love Madness* (Figura 3), foi produzido e divulgado entre os anos 1936 a 1939, apresentando a canábis como uma “droga” e relacionando o seu uso com loucura incontrolável, podendo levar a reações extremas como homicídio, suicídio e tentativa de estupro (Hill, 2015; IMDb, 2015). Da mesma forma, em 1938 o cultivo de canábis tornou-se ilegal no Canadá sob a Lei do Ópio e Narcóticos (Small e Marcus, 2002).

**Figura 3** Imagens de propagandas de divulgação do filme estadunidense *Reefer Madness*, divulgado nos Estados Unidos entre os anos 1936 a 1939.



Fonte: Adaptado de [https://www.google.com.br/search?q=Reefer+Madness&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjEidq48bnOAhXDC5AKHYfqA88Q\\_AUICSgC&biw=1366&bih=643](https://www.google.com.br/search?q=Reefer+Madness&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjEidq48bnOAhXDC5AKHYfqA88Q_AUICSgC&biw=1366&bih=643) (2016).

Durante a segunda metade do século XX a canábis teve grande importância social devido à exploração do seu consumo para fins hedonistas, ou seja, com a tendência a considerar que o prazer individual e imediato é a finalidade da vida. Na Europa, grupos de intelectuais se reuniam para fazer uso da planta, sendo descrições da sua utilização encontradas em romances de escritores franceses deste período. Nas Américas, em países como Brasil e México, os principais grupos que faziam a utilização da planta eram negros e grupos de pessoas com baixo poder socioeconômico. Ainda, foi através dos imigrantes mexicanos que a utilização da canábis chegou aos Estados Unidos para fins recreativos, sendo o consumo restrito aos bairros de negros e imigrantes hispânicos até a década de 1950 (Zuardi, 2006).

Desde a década de 1960, o uso recreativo da canábis espalhou-se rapidamente entre a população de faixa etária mais jovem em todo o mundo ocidental (Zuardi, 2006) e desde então o seu uso tem aumentado gradativamente, sendo atualmente a substância ilícita mais utilizada no mundo (UNODC, 2016), com uma prevalência de uso cerca de cinco vezes maior em relação às outras drogas (Umcdada, 2015).

No ano de 1964 na *The Hebrew University of Jerusalem*, o químico israelense Raphael Mecholaum isolou e elucidou a estrutura do canabinoide  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) (Gaoni e Mecholaum, 1964; Mecholaum et al., 2014; Pain, 2015). A partir desta data ocorreu uma proliferação de pesquisas científicas em torno dos componentes ativos presentes na canábis, além da exploração dos seus efeitos farmacológicos e fisiológicos (Zuardi, 2006; Mecholaum et al., 2014) até em torno de 1970, quando começaram a diminuir os estudos com a planta durante as duas décadas seguintes (Zuardi, 2006).

Um enorme interesse em realizar pesquisas com a canábis surgiu novamente no início de 1990 por consequência de estudos neurológicas que estavam sendo realizadas, os quais resultaram na descrição e clonagem de um novo tipo de receptor no cérebro. Em virtude de serem receptores específicos para canabinoides foram nomeados receptores CB1, sendo através destes receptores, por exemplo, que o  $\Delta^9$ -THC exerce seus efeitos psicoativos (Zuardi, 2006; Pertwee et al., 2010; Mecholaum et al., 2014). Em sequência, novas descobertas ocorreram nos anos seguintes: em 1992 a molécula N-araquidonil-etanolamina foi isolada e classificada como um canabinoide endógeno, a qual foi nomeada anandamida (AEA) (Devane et al., 1992; Mecholaum et al., 2014). No ano seguinte, 1993, identificou-se um segundo tipo de

receptores de canabinoides, localizados em regiões periféricas, sendo estes nomeados receptores CB2 (Pertwee et al., 2010; Mecholaum et al., 2014; Pain, 2015). Com as mesmas técnicas que foram utilizadas para isolar e elucidar a estrutura da AEA, em 1995 foi possível isolar e elucidar a estrutura de outro canabinoide endógeno, o éster do ácido araquidônico, denominado 2-araquidonil-glicerol (2-AG) (Mecholaum et al., 1995; Mecholaum et al., 2014).

Nos anos seguintes até os dias atuais, devido ao amplo interesse e a vasta pesquisa realizada em torno da canábis, seus derivados e preparações, a comunidade científica obteve muito progresso e compreensão de aspectos químicos, farmacológicos e toxicológicos relacionados aos canabinoides presentes na planta, prospectando um arcabouço de informações científicas que permitiram o melhor entendimento dos seus efeitos terapêuticos e não terapêuticos no corpo humano (Zuardi, 2006; Mecholaum et al., 2014). Substâncias agonistas sintéticas (Nuchiyama et al., 2010; Alves e Spaniol; Linden, 2012; Gunderson et al., 2014; Khan et al., 2016) e antagonistas sintéticas (Rinaldi-Carmona et al., 1994; Rinaldi-Carmona et al., 1998; Russo, 2008; Pamplona, 2014) vêm sendo descobertas para os receptores canabinoides, possibilitando assim extensiva pesquisa farmacológica, neurobiológica e toxicológica, além da descoberta de moduladores alostéricos de receptores CB1 (Barann et al., 2002; Baur, Gertsch e Sigel, 2011; Console-Bram, Marcu e Abood, 2012; Khajehali et al., 2015) e sinalização retrógrada (Di Marzo e De Petrocellis, 2012; Mecholaum et al., 2014; Orellana-Serradell et al., 2015; Speed et al., 2015).

### 3.2 *Cannabis sativa* L.

#### 3.2.1 *Botânica*

Embora haja constante discussão em referência à classificação botânica da canábis (Small e Cronquist, 1976; Van Bakel et al., 2011; Gloss, 2015; Small, 2015; Sawler et al., 2015) desde que ela foi classificada pela primeira vez em 1753, pelo botânico sueco Carolus Linnaeus (*Carl Von Linné*), o “Manual para uso dos laboratórios nacionais de análises de drogas” do Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime considera que a planta apresenta apenas uma espécie reconhecida,

sendo ela a *Cannabis sativa* L. (Linnaeus) (Small e Cronquist, 1976; UNODC, 2009; Small, 2015). Outras espécies relatadas para o gênero, como (*C. sativa* subsp. *sativa*, *C. sativa* subsp. *indica*, *C. sativa* subsp. *ruderalis*, *C. sativa* subsp. *spontanea*, *C. sativa* subsp. *kafiristanca*) atualmente são reconhecidas como subespécies da *C. sativa* L. (Small, Cronquist, 1976; UNODC, 2009; Small, 2015; Sawler et al., 2015; Usda, 2016).

Ainda, devido à dificuldade de distinguir as subespécies da planta tanto química como morfológicamente, uma vez que a canábis apresenta contínuas modificações conforme o ambiente em que foi plantada, a denominação *C. sativa* é considerada adequada para todas as plantas encontradas deste gênero (UNODC, 2009; Van Bakel et al., 2011; Sawler et al., 2015). A seguir a classificação botânica da canábis segundo o United States Department of Agriculture (2016):

NOME DA ESPÉCIE: *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

Gênero: *Cannabis* L.

Espécie: *Cannabis sativa* L.

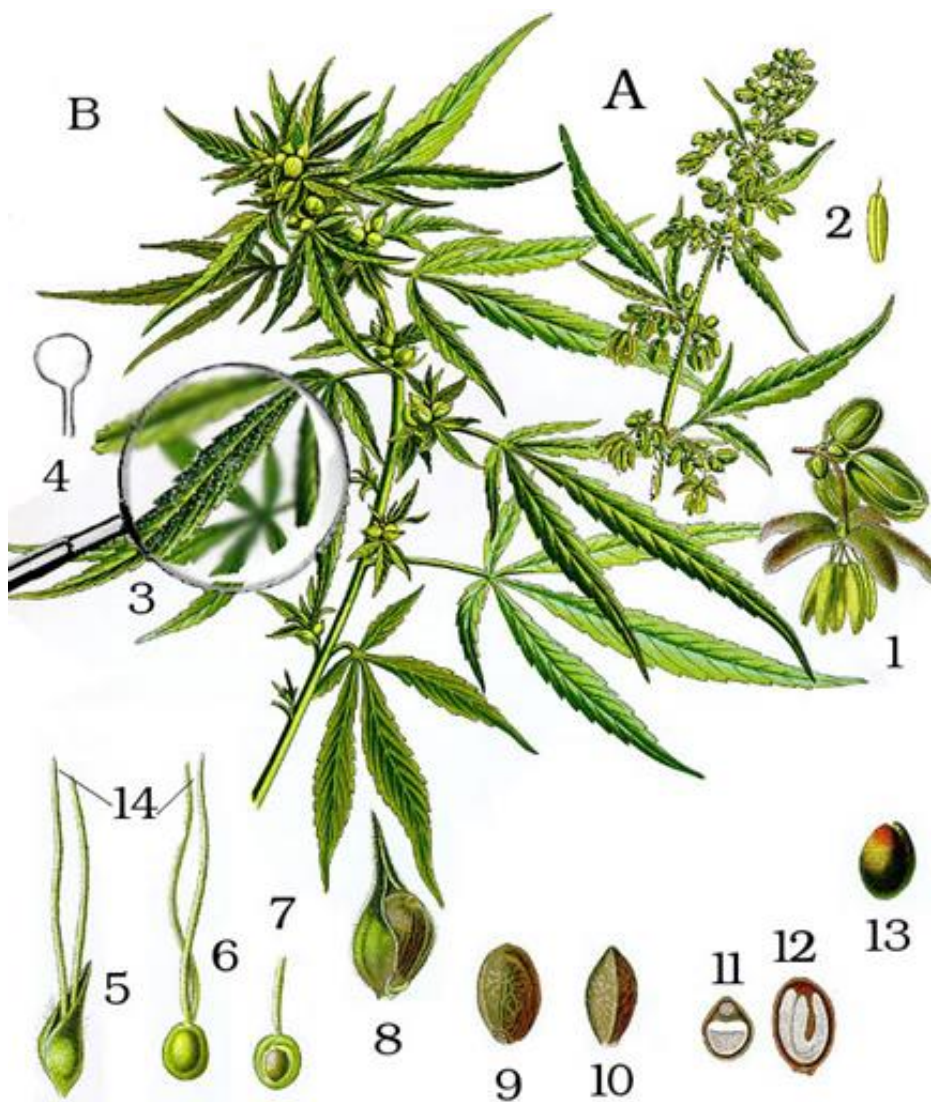
Subespécies: *sativa*, *indica*, *ruderalis*, *spontanea*

A canábis é uma planta anual dicotiledônea angiosperma, geralmente dioica, apresentando flores macho e fêmea em plantas separadas, porém, também pode ser monóica, compreendendo flores de ambos os sexos em uma única planta. Os estames (sexo masculino) são geralmente mais altos, mas menos robustos do que os pistilos (sexo feminino). Antes do início da floração o sexo da planta é indistinguível, mas, com o tempo o desenvolvimento da planta masculina e feminina varia muito se



tornando bem evidente a diferença entre os sexos (Figura 4, item A e B). As hastes são eretas e podem variar de 0,2-6 metros, no entanto, a maioria das plantas atingem alturas entre 1-3 metros. Tanto o grau de ramificação, como a altura das plantas, depende de fatores hereditários e ambientais, além da forma de cultivo (UNODC, 2009; Amaducci et al., 2015; Gloss, 2015).

**Figura 4** Aspectos morfológicos da *Cannabis sativa* L.



Fonte: UNODC (2009). A - florescimento da planta do sexo masculino; B - florescimento da planta do sexo feminino; 1 - conjunto de flor da planta do sexo masculino (detalhe ampliado); 2 - flor da planta do sexo masculino: estame (antera e filamento curto); 3 - folha da planta do sexo feminino coberta por tricomas (detalhe ampliado); 4 - desenho ilustrativo de um tricoma; 5 - flor da planta do sexo feminino: pistilo com bráctea; 6 - flor da planta do sexo feminino: pistilo sem bráctea; 7 - flor da planta do sexo feminino: pistilo mostrando ovário (secção longitudinal); 8 - semente (aquênio: semente única com bráctea); 9 - semente sem bráctea; 10 - semente, vista lateral; 11 - semente, secção transversal; 12 - semente, secção longitudinal; 13 - semente sem pericarpo (descascada); 14 - estílos.

Os frutos da canábis (Figura 4, item 8 a 14), comumente referidos como sementes, são pequenas nozes secas, botanicamente denominados aquênio. O fruto contém semente única constituída por dois cotilédones sendo que grande parte da sua massa é rica em substâncias de reserva. A massa dos aquênios é muito variável, entre 2 a 70 gramas a cada 1.000 sementes. Normalmente as sementes (Figura 5) em variedades monoicas são menores do que nas variedades dioicas (Amaducci et al., 2015). A planta se propaga a partir destas sementes, que crescem vigorosamente em ambientes ensolarados, com solos neutros a alcalinos, apresentando necessidade de nutrientes e água em abundância. Os grãos de pólen produzidos pelas flores masculinas requerem correntes de ar para levá-los até as flores femininas, resultando em fertilização e conseqüente produção das sementes (UNODC, 2009; Amaducci et al., 2015).

**Figura 5** Sementes de *Cannabis sativa* L. apreendidas pela Polícia Federal no Estado do Rio Grande do Sul.



Fonte: Polícia Federal (2014).

O ciclo de crescimento da canábis pode ser dividido em quatro fases: germinação e emergência; fase vegetativa (Figura 6); floração e formação de sementes; e senescência. A fase vegetativa por sua vez, ainda pode ser novamente dividida em três fases: fase juvenil; fase fotossensível; e fase de desenvolvimento da flor (Amaducci et al., 2015; Salentijn et al., 2015). As plantas masculinas cessam a disseminação após produzir milhões de pólenes e em seguida morrem (UNODC, 2009; Amaducci et al., 2015).

**Figura 6** Plântula de *Cannabis sativa* L. em fase vegetativa do ciclo de crescimento, com 30 dias de crescimento, proveniente de semente apreendida pela Polícia Federal no Estado do Rio Grande do Sul.



Fonte: Polícia Federal (2014).

De acordo com a maneira como o fotoperiodismo afeta a floração de uma plantas, ela pode ser classificadas em três tipos principais: i) plantas de dia curto (PDC) (Figura 7), aquelas que precisam ficar expostas à iluminação por um tempo inferior ao seu fotoperíodo crítico para que ocorra a floração; ii) plantas de dia longo (PDL), aquelas que dependem de iluminação por tempo superior ao seu fotoperíodo

crítico; e iii) plantas neutras (PN), florescem independentemente do período de luz ou escuro ao qual são expostas (Hamner e Bonne, 1938; Monaco et al., 1978).

**Figura 7** Fotoperiodismo de uma planta de dia curto que apresenta fotoperíodo crítico de 15 horas.



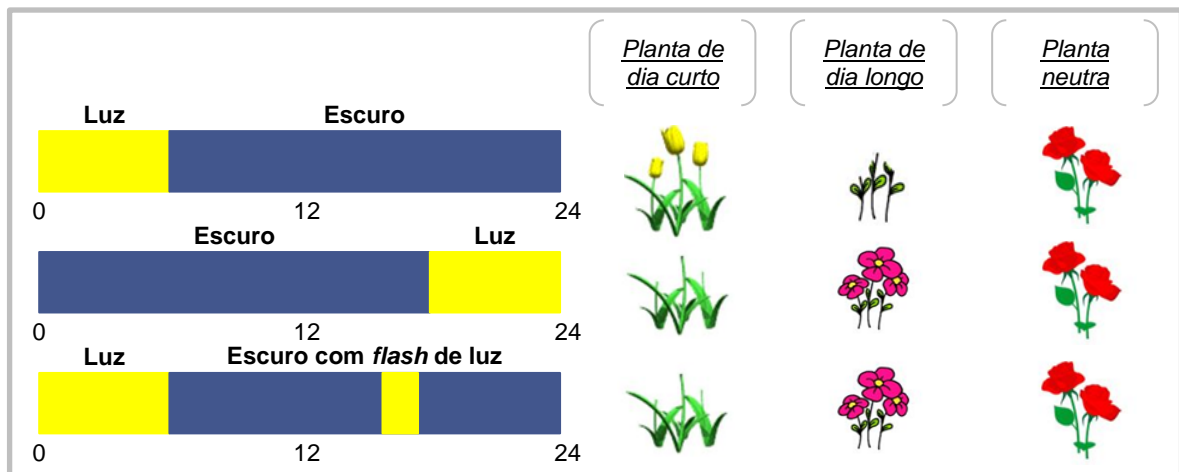
Fonte: Adaptado de [http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Morfofisiologia\\_vegetal/morfovegetal34.php643](http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Morfofisiologia_vegetal/morfovegetal34.php643) (2016).

Quando avaliados os fotoperíodos em situações distintas de luz/escuro (Figura 8) é possível concluir que a fase decisiva para determinar se haverá floração das plantas não é o período de luminosidade contínua, mas sim o período de escuridão. A importância da duração do período de escuro na floração é determinada interrompendo-se uma noite longa, a qual foi submetida uma PDL com um breve período de luz, permitindo que ocorra a floração. Já um período de escuridão durante um período longo de luz não fará florescer uma PDC (Hamner e Bonne, 1938; Monaco et al., 1978).

Por ser uma planta de dia curto, o fotoperíodo crítico da canábis é a duração do dia em que a semente é induzida a flor no momento em que a fase juvenil esteja pronta, correspondendo há aproximadamente 14 horas (Amaducci et al., 2015; Salentijn et al., 2015). A floração da planta inicia geralmente quando a escuridão exceder 11 horas por dia sendo que este ciclo de floração pode durar entre 4 e 12 semanas, dependendo da cepa e das condições ambientais (Elsohly, 2007; Hazekamp, 2007; UNODC, 2009; Salentijn et al., 2015). Dias mais curtos (noites mais longas) induzem o início da floração e conseqüentemente a planta a completar o seu ciclo de vida. Assim, a canábis começa a floração quando exposta a dias curtos de 12

a 14 horas (noites de 10 a 12 horas ou mais). No entanto, uma única noite de escuridão interrompida pode atrapalhar e atrasar a maturação da floração. Por outro lado, um ou dois dias de duração do dia curto pode induzir a floração, que pode ser irreversível em variedades de maturação precoce (Elsohly, 2007; Hazekamp, 2007; Salentijn et al., 2015).

**Figura 8** Floração da planta de dia curto, planta de dia longo e planta neutra, conforme três situações de fotoperiodismo distintos.



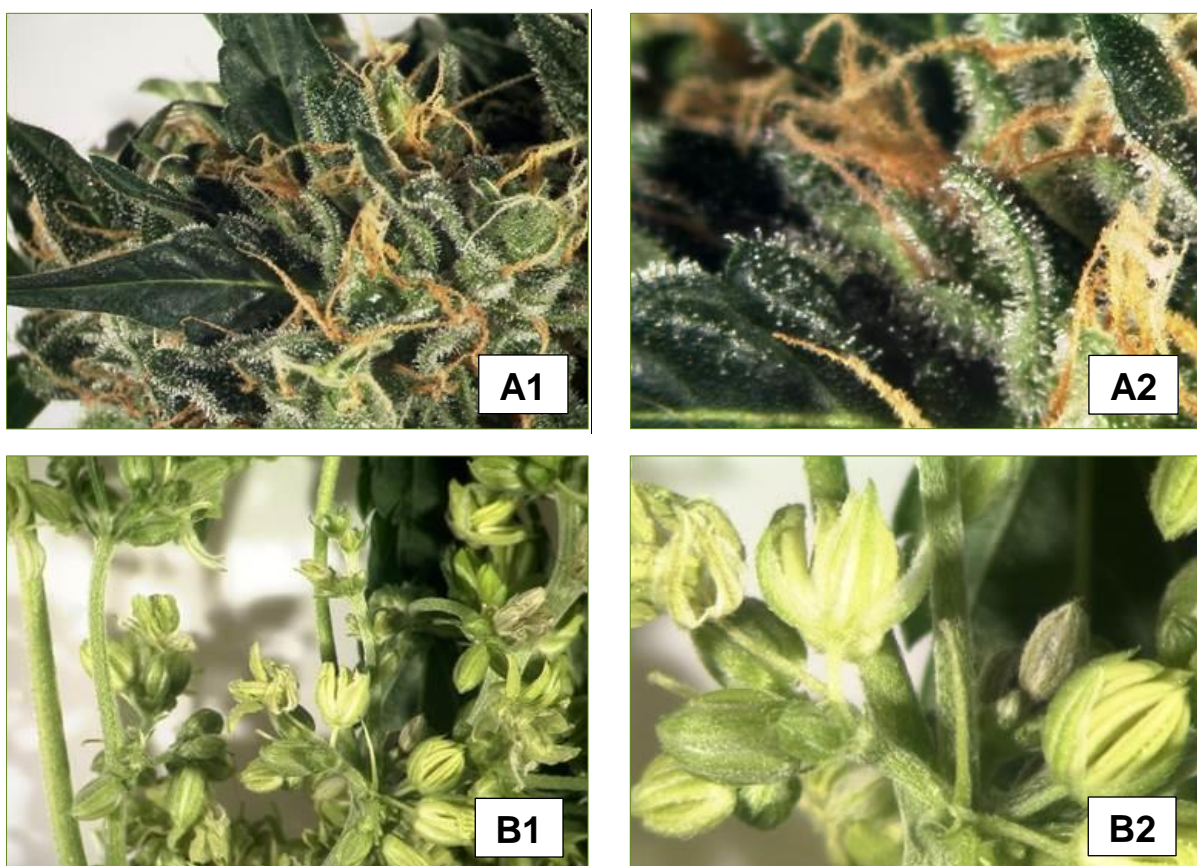
Fonte: Adaptado de [http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Morfofisiologia\\_vegetal/morfovegetal34.php643](http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Morfofisiologia_vegetal/morfovegetal34.php643) (2016).

Após o amadurecimento das sementes estas podem ser colhidas, comidas por aves ou roedores, ou cair no chão, onde poderão germinar na primavera seguinte (UNODC, 2009). A planta fêmea produz vários cachos de flores individuais, sendo um cacho grande na parte superior do tronco e vários pequenos em cada ramo. Em vez de fixar as sementes nas primeiras flores, as plantas femininas continuam a produzir flores adicionais e estas ficam recobertas por glândulas denominadas tricomas contendo uma resina rica em canabinoides e terpenos (Figura 9) (Elsohly, 2007; Hazekamp, 2007; Gloss, 2015).

Embora a genética da planta determine que ela se torne macho ou fêmea, fatores ambientais incluindo o ciclo de luz diurno, podem alterar o sexo da planta (hermafroditas). Hermafroditas naturais com ambos os sexos geralmente são estéreis, mas hermafroditas induzidas artificialmente podem ter órgãos reprodutores totalmente funcionais. Sementes feminilizadas de canábis são obtidas a partir de fêmeas artificialmente hermafroditas que não possuem o cromossomo masculino ou pelo tratamento das sementes com hormônios ou tiosulfato de prata. Assim, a produção

de pistilos (fêmeas) também pode ser obtida pelas sementes (UNODC, 2009; Amaducci et al., 2015; Salentijn et al., 2015).

**Figura 9** Inflorescência de planta feminina (A1 e A2) e inflorescência de planta masculina (B1 e B2) de *Cannabis sativa* L., proveniente de semente apreendida pela Polícia Federal no Estado do Rio Grande do Sul.



Fonte: Polícia Federal (2014). A1 e B1: aumento de 10 vezes; A2 e B2: aumento de 28 vezes.

O termo *sinsemilla* (“sem semente”) refere-se a uma diferente técnica de cultivo da planta, não ao cultivo de uma linhagem genética. Nesta técnica são cultivadas separadamente apenas plantas do sexo feminino, garantindo assim que elas não sejam expostas ao pólen. Uma vez que estas plantas não foram fertilizadas, conseqüentemente não apresentarão sementes, possibilitando a propagação de mudas apenas de plantas femininas, as quais apresentam maior acúmulo de metabólitos secundários vegetais, entre eles, os canabinoides (Elsohly, 2007; UNODC, 2009).

O cultivo da canábis ainda pode ser realizado ao ar livre (*outdoor*) e estas plantas geralmente são cultivadas a partir de sementes. A produção *sinsemilla* em

ambiente externo é realizada por meio da identificação e eliminação das plantas masculinas antes que ocorra a polinização ou também pela utilização de plantas fêmeas hermafroditas induzidas artificialmente (Elsohly, 2007; UNODC, 2009).

O cultivo em estufa (*indoor*) da canábis é facilmente realizado por clonagem, evitando assim que ocorra o crescimento das plantas masculinas indesejadas. A produção *indoor* pode ser realizada em grandes porões ou fábricas fechadas assim como em um quarto de residência podendo ainda estar aliada ao cultivo da técnica hidropônica, ou seja, plantas que crescem em soluções nutritivas em vez de solo. Quando cultivadas em solo, o pH ótimo para a planta é de 6,5 a 7,0, já em crescimento hidropônico, a solução nutritiva deve estar com pH de 5,2 a 5,8, tornando o cultivo hidropônico da canábis bem adequado para a produção em estufa, uma vez que nessa faixa de pH o ambiente torna-se hostil para a maioria das bactérias e fungos (Elsohly, 2007; UNODC, 2009). Além disso, produtores de canábis *in door* (em ambiente fechado) podem manipular a resposta de floração da planta e obter cultivares com maior potência de droga, devido ao maior acúmulo de ativos. Geralmente, o crescimento da planta inicia-se em um dia de comprimento longo, entre 18 e 24 horas de luz por dia. No momento seguinte, com a finalidade de induzir e manter a floração altera-se a duração do dia para um fotoperíodo de 12 horas claras e 12 horas escuras (Potter, 2013).

### 3.2.2 Constituintes químicos

Ao longo dos anos uma enorme variedade de constituintes químicos que compõem as mais diversas classes de produtos naturais, foram sendo identificados na *C. sativa* (Elsohly e Slade, 2005; Radwan et al., 2015). Atualmente, mais de 750 constituintes químicos foram identificados na planta (Radwan et al., 2015). Dentre estes, encontram-se produtos naturais da classe dos monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, esteroides, compostos nitrogenados, além dos canabinoides, classe de metabólitos com importância toxicológica (Elsohly e Slade, 2005; Radwan et al., 2015). Do total de compostos identificados até o momento, mais de 100 são classificados como canabinoides (Radwan et al., 2015), encontrados unicamente em plantas do gênero *Cannabis* (Elsohly e Slade, 2005; Radwan et al., 2015).

Os terpenos são os compostos químicos constitutivos do óleo essencial das plantas e, portanto, os responsáveis pelo aroma típico da canábis. Unidades de isopreno ( $C_5H_8$ ) formam os monoterpenoides ( $C_{10}$ ), sesquiterpenoides ( $C_{15}$ ), diterpenoides ( $C_{20}$ ), e triterpenoides ( $C_{30}$ ) e assim sucessivamente (Elsohly, 2007; Russo, 2011; Aizpurua-Olaizola et al., 2016). Os mono- e sesquiterpenoides são os principais responsáveis pelas características organolépticas das variedades de canábis (Hillig, 2004), sendo os sesquiterpenos, em especial o óxido de cariofileno, frequentemente associados ao odor característico da planta. Outros exemplos de terpenoides encontrados, tanto em plantas jovens como nas adultas, foram o  $\beta$ -mirceno, limoneno,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno, *trans*-ocimeno,  $\alpha$ -terpinoleno e o  $\alpha$ -humuleno, apresentando alta variabilidade tanto na composição como na concentração destes compostos (Elsohly, 2007; Fishedick et al., 2010; Russo, 2011; Aizpurua-Olaizola et al., 2016). Outros terpenoides encontrados apenas em níveis de traços são: sabineno,  $\alpha$ -terpineno, 1,8-cineol (eucaliptol), pulegona,  $\gamma$ -terpineno, terpin-4-ol, acetato de bornila,  $\alpha$ -copaeno, alloaromadendreno, viridiflorene,  $\beta$ -bisaboleno,  $\gamma$ -cadineno, *trans*- $\beta$ -farneseno, *trans*-nerolidol e o  $\beta$ -bisabolol (Elsohly, 2007; Fishedick et al., 2010; Russo, 2011).

O termo "canabinoides" refere-se a um grupo de compostos terpenofenólicos com  $C_{21}$  ou  $C_{22}$ , incluindo seus análogos e metabólitos, encontrados até o momento exclusivamente na *C. sativa* (Elsohly e Slade, 2005; Radwan et al., 2015). Ao longo dos anos, com a ocorrência do desenvolvimento e síntese de canabinoides em laboratório, chamados "canabinoides sintéticos" (Rinaldi-Carmona et al., 1994; Rinaldi-Carmona et al., 1998; Russo, 2008; Nuchiyama et al., 2010; Alves, Spaniol e Linden, 2012; Gunderson et al., 2014; Pamplona, 2014; Khan et al., 2016); com a descoberta de compostos que se ligam aos receptores canabinoides e são sintetizados no próprio organismo humano, chamados "canabinoides endógenos" (Devane et al., 1992; Mecholaum et al., 1995; Mecholaum et al., 2014), o termo "fitocannabinoides" foi proposto para os canabinoides particulares da planta canábis (Elsohly e Slade, 2005), porém comum e habitualmente ainda chamados apenas de canabinoides.



### 3.2.3 Biossíntese dos canabinoides

Os fitocanabinoides, classe de metabólitos secundários terpenofenólicos com caráter predominantemente apolar e, portanto, com baixa solubilidade em água, estão quimicamente relacionados com os compostos terpenoides. Ambas as classes destes compostos são sintetizadas na canábis, em células secretoras que se encontram no interior de tricomas glandulares (Figura 10) (Russo, 2011; Van Bakel et al., 2011; Happyana et al., 2013; Onofri, De Meijer e Mandolino, 2015; Small e Naraine, 2016). Estas estruturas, por sua vez, estão presentes em maior proporção nas flores e inflorescências (*buds*) femininas não fertilizadas antes da senescência (Russo, 2011; Van Bakel et al., 2011; Onofri, De Meijer e Mandolino, 2015) e presente em menor número em folhas, pecíolos e hastes, e ausente em raízes e também nas sementes, devido às sementes da canábis serem protegidas por brácteas, formando estruturas chamadas aquênios. Como consequência, estes últimos órgãos da planta não contêm canabinoides (Happyana et al., 2013; Onofri, De Meijer e Mandolino, 2015; Small e Naraine, 2016).

**Figura 10** Tricomas glandulares presentes nas inflorescências de planta feminina de *Cannabis sativa* L., proveniente de semente apreendida pela Polícia Federal no Estado do Rio Grande do Sul.



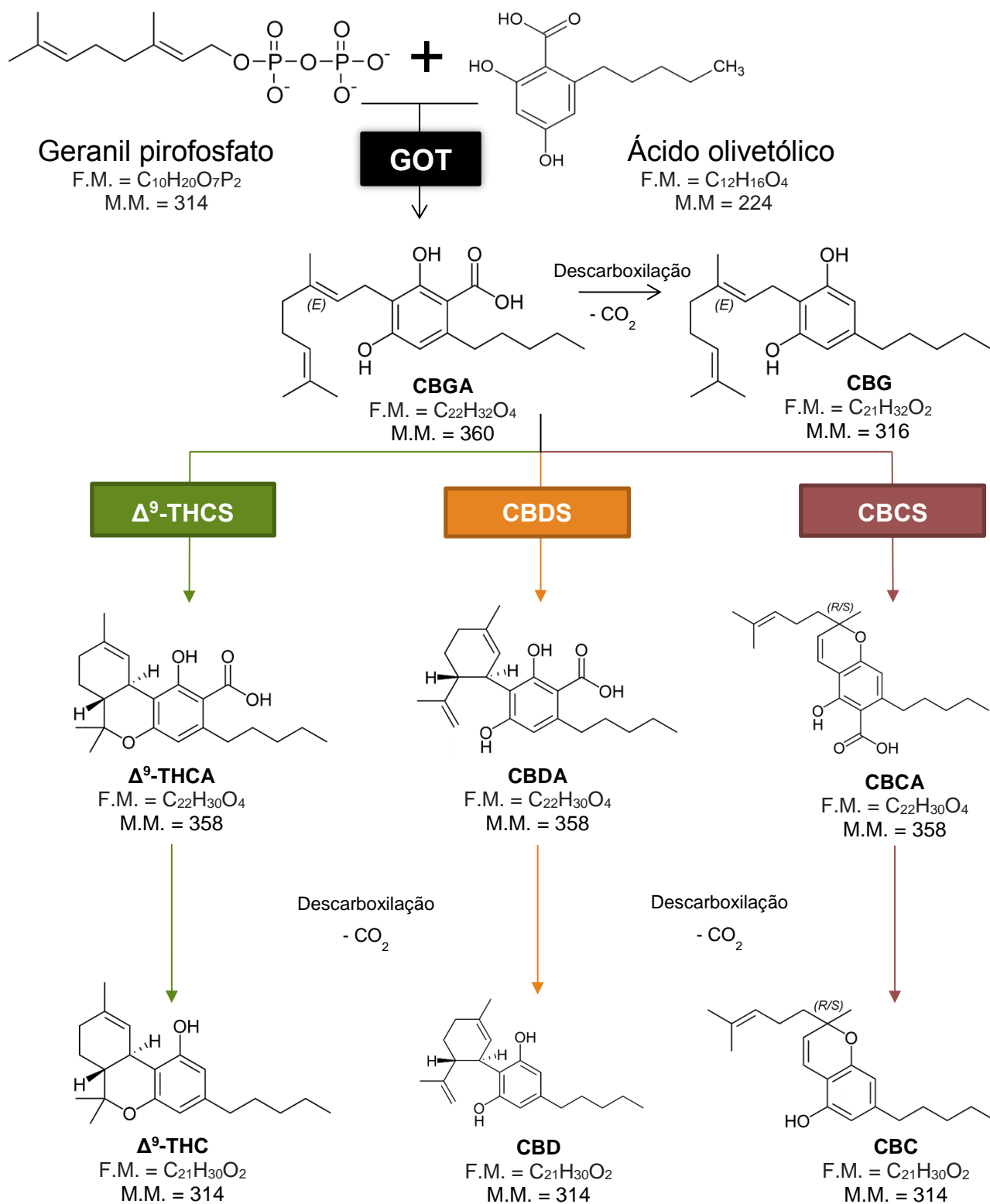
Fonte: Polícia Federal (2014). Aumento de 81 vezes.

Existem diferentes tipos de tricomas presentes na canábida (Happyana et al., 2013; Gloss, 2015; Small e Naraine, 2016) divididos em 3 classes: capitado haste longa, capitado haste curta, e sem haste ("sésseis"). Estes tricomas glandulares são distribuídos nas partes verdes (fotossintéticas) da planta e a presença e quantidade de cada classe variam dependendo de fatores como a idade e a subespécie da planta (Small e Naraine, 2016). Embora não se saiba por completo qual o papel destas estruturas na planta, já é sabido que os tricomas atuam como protetores da planta contra herbívoros e patógenos (Happyana et al., 2013; Gloss, 2015; Small e Naraine, 2016). As substâncias sintetizadas nos tricomas são frequentemente e imensamente úteis para os seres humanos como pesticidas naturais, aditivos alimentares, em fragrâncias e produtos farmacêuticos (Small e Naraine, 2016).

A via de biossíntese vegetal dos canabinoides (Figura 11 e 12) tem sido extensivamente estudada nas últimas décadas, sendo consenso na comunidade científica atual a participação de vias alternativas de formação dos canabinoides, tendo como origem biossintética as vias dos terpenoides (De Meijer et al., 2003; Russo, 2011; Gagne et al., 2012; Hill et al., 2012; Onofri, De Meijer e Mandolino, 2015). O componente geranyl pirofosfato é formado como um precursor na canábida, sendo este o composto comum de origem tanto para os canabinoides como para os terpenoides (De Meijer et al., 2003; Elsohly, 2007; Russo, 2011; Hill et al., 2012). Seguindo a via de formação dos terpenoides o geranyl pirofosfato pode formar monoterpenoides nas células secretoras, ou se acoplar no citoplasma das células com o isopentenil pirofosfato para formar o farnesil pirofosfato, composto de origem para os sesquiterpenoides (Russo, 2011).

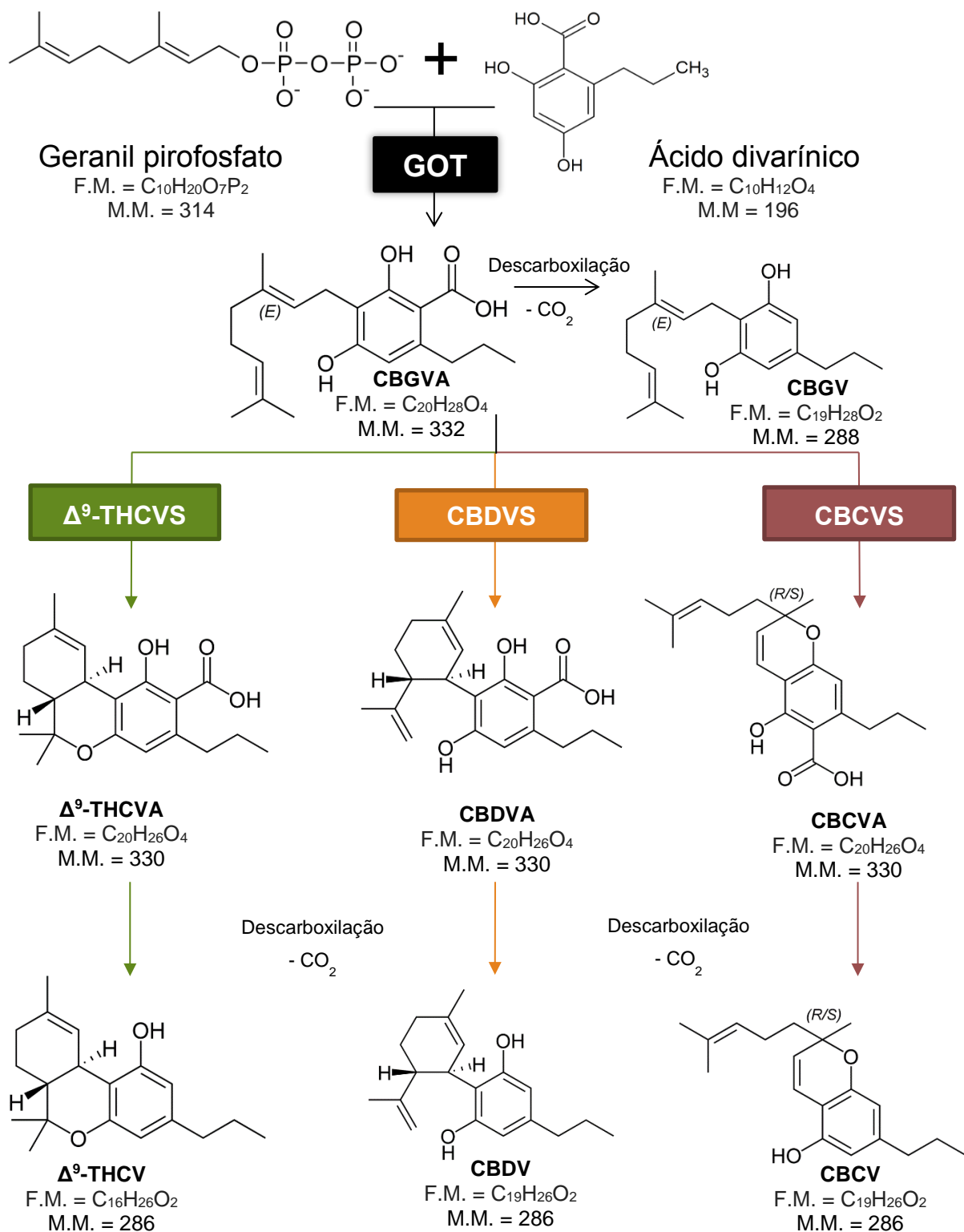
Em relação à via de biossíntese dos canabinoides, o terpenoide geranyl pirofosfato pode se acoplar com frações fenólicas com cadeias laterais pentil (ácido olivetólico), formando os canabinoides C<sub>21</sub> (Figura 11), sendo estes os compostos mais abundantes e possivelmente por este motivo são também os canabinoides mais estudados até o momento. Uma série homóloga de compostos com cadeias laterais propil (ácido divarínico), formando canabinoides C<sub>19</sub> (Figura 12), pode ocorrer dependendo da subespécie da planta (De Meijer et al., 2003; Hillig e Mahlberg, 2004; Russo, 2011; Hill et al., 2012; Rock et al., 2013; McPartland et al., 2015; Onofri, De Meijer e Mandolino, 2015).

**Figura 11** Esquema básico da biossíntese vegetal dos principais canabinoides C21 presentes na *Cannabis sativa* L.



Fonte: Adaptado de Salentijn et al. (2015). GOT: geranyl pirofosfato-olivetolato geranyl transferase; CBGA: ácido canabigerólico; CBG: canabigerol; Δ<sup>9</sup>-THCA: ácido Δ<sup>9</sup>-tetrahydrocanabinólico; CBDA: ácido canabidiólico; CBCA: ácido canabicromênico; Δ<sup>9</sup>-THCAS: ácido Δ<sup>9</sup>-tetrahydrocanabinólica sintase; CBDAS: ácido canabidiólica sintase; CBCAS: ácido canabicromênica sintase; Δ<sup>9</sup>-THC: Δ<sup>9</sup>-tetrahydrocanabinol; CBD: canabidiol; CBC: canabicromeno.

**Figura 12** Esquema básico da biossíntese vegetal dos principais canabinoides C19 presentes na *Cannabis sativa* L.



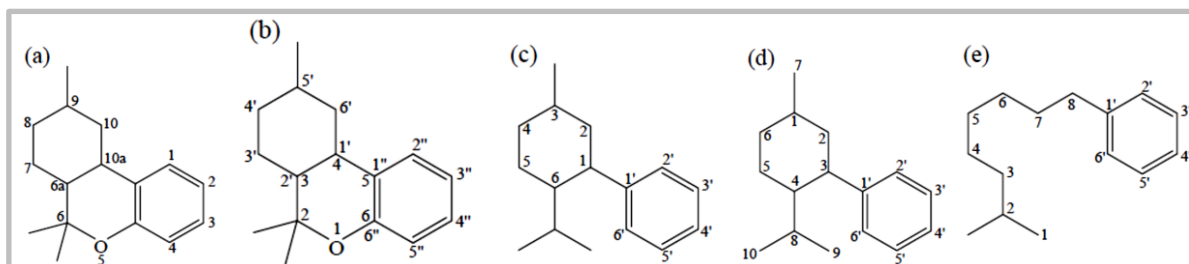
Fonte: Adaptado de Salentijn et al. (2015). GOT: geranyl pirofosfato-olivetolato geranyl transferase; CBGVA: ácido canabigerovarínico; CBGV: canabigerovarino; Δ<sup>9</sup>-THCVA: ácido Δ<sup>9</sup>-tetrahydrocanabivarínico; CBDVA: ácido canabidivarínico; CBCVA: ácido canabivaricromênico; Δ<sup>9</sup>-THCVS: ácido Δ<sup>9</sup>-tetrahydrocanabivarínica sintase; CBDVS: ácido canabidivarínica sintase; CBCVS: ácido canabivaricromênica sintase; Δ<sup>9</sup>-THCV: Δ<sup>9</sup>-tetrahydrocanabivarino; CBDV: canabidivarino; CBCV: canabivaricromeno.

Uma vez que os precursores geranyl pirofosfato e ácido olivetólico são condensados através de catálise pela enzima geranyl pirofosfato-olivetolato geranyl transferase (GOT) ocorrerá à formação do ácido canabigerólico (CBGA) (Fellermeier e Zenk, 1998; De Meijer et al., 2003; Gagne et al., 2012; Hill et al., 2012; Happyana et al., 2013; Onofri, De Meijer e Mandolino, 2015; Salentijn et al., 2015).

Subsequentemente após a formação do CBGA, este é convertido a ácido tetrahydrocannabinólico ( $\Delta^9$ -THCA), ácido canabidiólico (CBDA) e ácido canabicromênico (CBCA) através das respectivas enzimas oxidociclases  $\Delta^9$ -THCA sintase ( $\Delta^9$ -THCAS), CBDA sintase (CBDAS), e CBCA sintase (CBCAS), respectivamente (Gagne et al., 2012; Hill et al., 2012; Happyana et al., 2013; Onofri, De Meijer e Mandolino, 2015; Salentijn et al., 2015). Finalmente, a partir das suas formas ácidas, os canabinoides neutros  $\Delta^9$ -THC, CBD e canabicromeno (CBC) são formados por descarboxilação não enzimática, podendo ocorrer durante o armazenamento da planta ou através da interação da mesma com o calor e a luz (Russo, 2011; Gagne et al., 2012; Hill et al., 2012; Happyana et al., 2013; Onofri, De Meijer e Mandolino, 2015; Salentijn et al., 2015).

Como pode ser observado na Figura 13, cinco sistemas de numeração distintos têm sido utilizados para os canabinóides. São elas: (a) Dibenzopirano, (b) Numeração utilizada por Todd, (c) Difênil, (d) Monoterpeno com base em *p*-cimeno e (e) Numeração monoterpreno (Elsohly e Slade, 2005).

**Figura 13** Diferentes sistemas de numeração dos canabinoides.

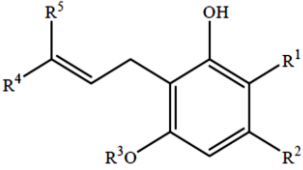
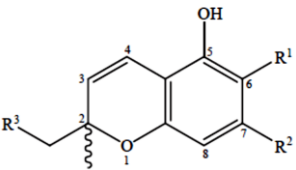
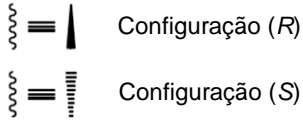


Fonte: Adaptado de Elsohly e Slade (2005). (a) Dibenzopirano, (b) Numeração utilizada por Todd, (c) Difênil, (d) Monoterpeno com base em *p*-cimeno e (e) Numeração monoterpreno.

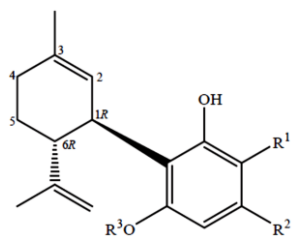
### 3.2.4 Classes dos canabinoides

Segundo Elsohly e Slade (2005) os canabinoides podem ser separados em diferentes classes sendo elas: canabigerol (CBG), canabicromeno (CBC), canabidiol (CBD),  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC),  $\Delta^8$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^8$ -THC), canabicitrol (CBL), canabielsoin (CBE), canabinol (CBN), canabinodiol (CBND), canabitriol (CBT) e finalmente, um grupo de canabinoides diversos (Tabela 1). Com exceção do grupo de canabinoides diversos, os compostos de uma mesma classe geralmente diferem quanto ao número de carbonos da cadeia lateral, podendo variar de 1 a 5 carbonos, mas também podem diferir na posição dos radicais presentes na estrutura básica da classe. Na Tabela 2 podem ser observadas as estruturas básicas de cada classe e os radicais presentes na molécula representados por R1, R2, R3, R4 e R5, conforme o número de radicais existentes. Os canabinoides pertencentes a cada classe estão descritos na Tabela 2, conforme sua razão massa/carga (*m/z*), fórmula empírica, identificação dos grupos químicos nos radicais (R1, R2, R3, R4 e R5) e isomeria *cis/trans*, quando houver.

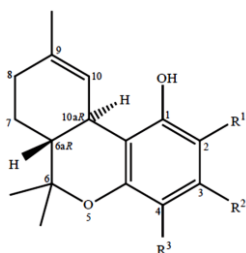
**Tabela 1** Classes e estrutura básica dos canabinóides de cada classe.

Classes	Estrutura básica dos canabinoides
Canabigerol (CBG)	
Canabicromeno (CBC)	 

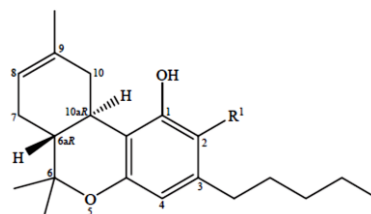
Canabidiol  
(CDB)



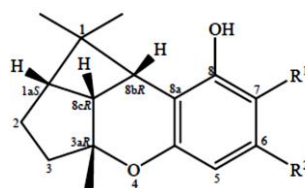
$\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol  
( $\Delta^9$ -THC)



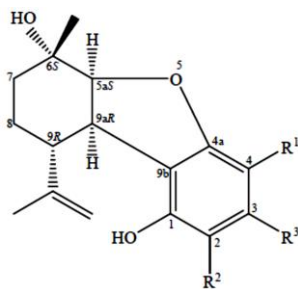
$\Delta^8$ -tetrahydrocannabinol  
( $\Delta^8$ -THC)



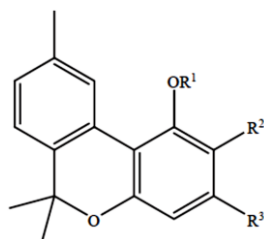
Canabicyclol  
(CBL)



Canabielsoin  
(CBE)

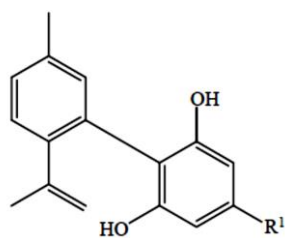


Canabinol  
(CBN)



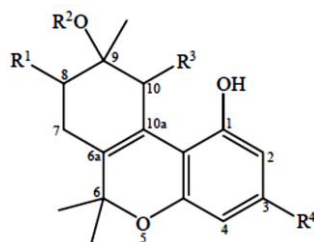
---

Canabinodiol  
(CBND)



---

Canabitriol  
(CBT)



---

Estruturas incomuns:

Diversos

- › com anel furano: desidrocanabifurano, canabifurano;
- › com função carbonila: canabicromanona, 10-oxo- $\delta$ -6a-tetra-hidrocanabinol;
- › com tetra substituição: canabiripsol.

---

Fonte: Adaptado de Elsohly e Slade (2005).



**Tabela 2** Descrição dos canabinoides pertencentes às diferentes classes de canabinoides conforme seu nome, razão massa/carga (*m/z*), fórmula empírica, isomeria *cis/trans* (quando houver) e identificação dos grupos químicos nos radicais (R1, R2, R3, R4 e R5).

Nome	P.M.*	Fórmula empírica	<i>cis ou trans</i>	Radical				
				R1	R2	R3	R4	R5
<b>CBG</b>								
Ácido canabigerólico A [( <i>E</i> )-CBGA-C <sub>5</sub> A]	344	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	<i>cis</i>	COOH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
Ácido canabigerólico A monometil éter [( <i>E</i> )-CBGAM-C <sub>5</sub> A]	358	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	<i>cis</i>	COOH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
Canabigerol [( <i>E</i> )-CBG-C <sub>5</sub> ]	316	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	<i>cis</i>	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
Canabigerol monometil éter [( <i>E</i> )-CBGM-C <sub>5</sub> ]	314	C <sub>22</sub> H <sub>34</sub> O	<i>cis</i>	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
Ácido Canabigerovarínico A [( <i>E</i> )-CBGVA-C <sub>3</sub> A]	330	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	<i>cis</i>	COOH	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
Canabigerovarino [( <i>E</i> )-CBGV-C <sub>3</sub> ]			<i>cis</i>	H	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
Ácido canabigerólico A [( <i>Z</i> )-CBGA-C <sub>5</sub> A]	344	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	<i>trans</i>	COOH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
<b>CBC</b>								
(±)-Ácido canabicromênico (CBCA-C <sub>5</sub> A)	358	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	-	COOH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	-
(±)-Canabicromeno (CBC-C <sub>5</sub> )	314	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	-	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	-
(±)-Ácido canabicromevarino (CBCVA-C <sub>3</sub> A)	330	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	-	COOH	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	-

(±)-Canabivariocromeno (CBCV-C <sub>3</sub> /CBCV-'C <sub>3</sub> )	286	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	-	H	<i>n</i> / <i>i</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	-
(+)-Canabícromevarino (CBCV-C <sub>3</sub> )	286	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	-	H	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	-

**CBD**

Ácido canabidiólico (CBDA-C <sub>5</sub> )	258	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	-	COOH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	-	-
(-)-Canabidiol (CBD-C <sub>5</sub> )	314	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	-	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	-	-
Canabidiol monometil éter (CBDM-C <sub>5</sub> )	328	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	-	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	CH <sub>3</sub>	-	-
Canabidiol-C <sub>4</sub> (CBD-C <sub>4</sub> )	300	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	-	H	<i>n</i> -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H	-	-
Ácido canabidivarínico (CBDVA-C <sub>3</sub> )	330	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	-	COOH	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	-	-
(-)-Canabidivarino (CBDV-C <sub>3</sub> )	286	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	-	H	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	-	-
Canabidiocol (CBD-C <sub>1</sub> )	258	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	-	H	CH <sub>3</sub>	H	-	-

**Δ<sup>9</sup>-THC**

Ácido Δ <sup>9</sup> -tetrahydrocanabinólico A (Δ <sup>9</sup> -THCA-C <sub>5</sub> A)	358	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	-	COOH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	-	-
Ácido Δ <sup>9</sup> -tetrahydrocanabinólico B (Δ <sup>9</sup> -THCA-C <sub>5</sub> B)	358	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	-	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	COOH	-	-
Δ <sup>9</sup> - <i>trans</i> -Tetrahydrocanabinol (Δ <sup>9</sup> -THC-C <sub>5</sub> )	314	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	<i>trans</i>	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	-	-
(-)-Δ <sup>9</sup> -(6a <i>S</i> ,10a <i>R</i> - <i>cis</i> )- Tetrahydrocanabinol [(-)- <i>cis</i> -Δ <sup>9</sup> -THC-C <sub>5</sub> ]	314	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	<i>cis</i>	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	H	-	-
Ácido tetrahydrocanabinólico-C <sub>4</sub> (Δ <sup>9</sup> -THCA-C <sub>4</sub> A e/ou B)	344	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	-	H ou COOH	<i>n</i> -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H ou COOH	-	-

Tetrahydrocanabinol-C <sub>4</sub> ( $\Delta^9$ -THC-C <sub>4</sub> )	300	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	-	H	<i>n</i> -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H	-	-
Ácido tetrahydrocanabivarínico A ( $\Delta^9$ -THCVA-C <sub>3</sub> A)			-	COOH	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	-	-
Tetrahydrocanabivarino ( $\Delta^9$ -THCV-C <sub>3</sub> )	286	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	-	H	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	-	-
Ácido tetrahydrocanabiorcólico ( $\Delta^9$ -THCOA-C <sub>1</sub> A e/ou B)	302	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	-	H ou COOH	CH <sub>3</sub>	H ou COOH	-	-
Tetrahydrocanabiorcol ( $\Delta^9$ -THCO-C <sub>1</sub> )	258	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	-	H	CH <sub>3</sub>	H	-	-
<b><math>\Delta^8</math>-THC</b>								
(-)- $\Delta^8$ - <i>trans</i> -(6a <i>R</i> ,10a <i>R</i> )-Ácido tetrahydrocanabinólico A ( $\Delta^8$ -THCA-C <sub>5</sub> A)	358	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	<i>trans</i>	COOH	-	-	-	-
(-)- $\Delta^8$ - <i>trans</i> -(6a <i>R</i> ,10a <i>R</i> )- Tetrahydrocanabinol ( $\Delta^8$ -THC-C <sub>5</sub> )	314	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	<i>trans</i>	H	-	-	-	-
<b>CBL</b>								
(±)-(1a <i>S</i> ,3a <i>R</i> ,8b <i>R</i> ,8c <i>R</i> )-Ácido Cannabiciclólico (CBLA-C <sub>5</sub> A)	358	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	-	COOH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-	-	-
(±)-(1a <i>S</i> ,3a <i>R</i> ,8b <i>R</i> ,8c <i>R</i> )- Canabiciclol (CBL-C <sub>5</sub> )	314	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	-	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-	-	-
(±)-(1a <i>S</i> ,3a <i>R</i> ,8b <i>R</i> ,8c <i>R</i> )- Canabiciclovarino (CBLV-C <sub>3</sub> )	285	C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> O <sub>2</sub>	-	H	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	-	-	-
<b>CBE</b>								
(5a <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,9 <i>R</i> ,9a <i>R</i> )-Ácido canabielsóico A (CBEA-C <sub>5</sub> A)	346	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	-	COOH	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-	-

(5aS,6S,9R,9aR)- Ácido canabielsóico B (CBEA-C <sub>5</sub> B)	346	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	-	H	COOH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-	-
(5aS,6S,9R,9aR)-C <sub>3</sub> - Ácido canabielsóico B (CBEA-C <sub>3</sub> B)	330	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	-	H	COOH	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	-	-
(5aS,6S,9R,9aR)-Cannabielsoin (CBE-C <sub>5</sub> )	314	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	-	H	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-	-
(5aS,6S,9R,9aR)-C <sub>3</sub> - Canabielsoino (CBE-C <sub>3</sub> )	286	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	-	H	H	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	-	-

**CBN**

Ácido canabinólico A (CBNA-C <sub>5</sub> A)	354	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	-	H	COOH	-	-	-
Canabinol (CBN-C <sub>5</sub> )	310	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	-	H	H	-	-	-
Canabinol metil éter (CBNM-C <sub>5</sub> )	324	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	-	CH <sub>3</sub>	H	-	-	-
Canabinol-C <sub>4</sub> (CBN-C <sub>4</sub> )	296	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	-	H	H	-	-	-
Canabivarino (CBN-C <sub>3</sub> )	282	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	-	H	H	-	-	-
Canabinol-C <sub>2</sub> (CBN-C <sub>2</sub> )	268	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	-	H	H	-	-	-
Canabiorcol-C <sub>1</sub> (CBN-C <sub>1</sub> )	254	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	-	H	H	-	-	-

**CBND**

Canabinodiol (CBND-C <sub>5</sub> )	310	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	-	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-	-	-	-
Canabinodivarino (CBVD-C <sub>3</sub> )	282	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	-	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	-	-	-	-

CBT								
(-)- <i>trans</i> -Canabitriol [(-)- <i>trans</i> -CBT-C <sub>5</sub> ]	346	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	<i>trans</i>	H	H	OH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-
(+)- <i>trans</i> -Cannabitriol [(+)- <i>trans</i> -CBT-C <sub>5</sub> ]	346	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	<i>trans</i>	H	H	OH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-
(±)- <i>cis</i> -Cannabitriol [(±)- <i>cis</i> -CBT-C <sub>5</sub> ]	346	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	<i>cis</i>	H	H	OH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-
(±)- <i>trans</i> -Cannabitriol-C <sub>3</sub> [(±)- <i>trans</i> -CBT-C <sub>3</sub> ]	318	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	<i>trans</i>	H	H	OH	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	-
CBT-C <sub>3</sub> -homólogo (estereoquímica não conhecida)	318	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	-	H	H	OH	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	-
(-)- <i>trans</i> -10-Etóxi-9-hidroxi-Δ <sup>6a(10a)</sup> - tetrahydrocannabinol [(-)- <i>trans</i> - CBT-OEt-C <sub>5</sub> ]	374	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>4</sub>	<i>trans</i>	H	H	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-
<i>trans</i> -10-Etóxi-9-hidroxi-Δ <sup>6a(10a)</sup> - tetrahydrocannabivarino-C <sub>3</sub> [ <i>trans</i> - CBT-OEt-C <sub>3</sub> ]	346	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	<i>trans</i>	H	H	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	-
8,9-Dihidroxi-Δ <sup>6a(10a)</sup> - tetrahydrocannabinol [8,9-Di-OH- CBT-C <sub>5</sub> ]	346	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	-	OH	H	H	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-
Ácido canabidiólico tetrahydrocannabitriol éster (CBDA- C <sub>5</sub> 9-OH-CBT-C <sub>5</sub> éster)	702		-	H	CBDA-C <sub>5</sub> éster	OH	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-
DIVERSOS								
Dehidrocannabifurano (DCBF-C <sub>5</sub> )	308	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-
Canabifurano (CBF-C <sub>5</sub> )	310	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-
Canabicromanono (CBCN-C <sub>5</sub> )	332	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	-	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-	-	-	-

Canabicromanono-C <sub>3</sub> (CBCN-C <sub>3</sub> )	304	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	-	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	-	-	-	-
Canabicoumaronono-C <sub>5</sub> (CBCON-C <sub>5</sub> )	328	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-
Canabicitrano (CBT-C <sub>5</sub> )	314	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-
10-Oxo-Δ <sup>6a(10a)</sup> - Tetrahydrocannabinol (OTHC)	328	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-
Canabiglendol-C <sub>3</sub> (OH- <i>iso</i> -HHCV-C <sub>3</sub> )	304	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-
(-)-(6a <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i> ,10a <i>R</i> )-9,10- Dihidroxihexahidrocanabinol [(-)-Canabiripsol-C <sub>5</sub> ]	348	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	-
(-)-6a,7,10a-Trihidroxi-Δ <sup>9</sup> - tetrahydrocannabinol [(-)-Canabitetrol]	362	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	-	-	-	-	-	-
(±)-Δ <sup>7</sup> - <i>cis</i> -(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> )- Isotetrahidrocanabivarino-C <sub>3</sub>	286	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	<i>cis</i>	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	-	-	-	-
(-)-Δ <sup>7</sup> - <i>trans</i> -(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>R</i> )- Isotetrahidrocanabivarino-C <sub>3</sub>	286	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	<i>trans</i>	<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	-	-	-	-
(-)-Δ <sup>7</sup> - <i>trans</i> -(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>R</i> )- Isotetrahidrocanabinol-C <sub>5</sub>	314	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	<i>trans</i>	<i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	-	-	-	-

Fonte: Adaptado de Elsohly e Slade (2005). \* Peso molecular.

### 3.3 Quimiotipos

Técnicas de cultivo, tais como densidade do plantio (número de plantas por unidade de área), adubação nitrogenada e a época da colheita da planta são fatores importantes que afetam características fenotípicas da canábis (Amaducci et al., 2015; Salentijn et al., 2015). No entanto, tanto as características físicas como o conteúdo e a composição dos canabinoides presentes na planta são altamente variáveis entre as diferentes subespécies de canábis existentes (Van Bakel et al., 2011; El-Deftar et al., 2015).

Diante disso, três quimiotipos principais são reconhecidos para a planta, baseando-se na proporção dos dois principais canabinoides presentes na canábis, o  $\Delta^9$ -THC e o CBD: (i) Tipo droga, quando há predomínio de  $\Delta^9$ -THC; (ii) Tipo intermediário, quando há quantidades semelhantes de ambos canabinoides; e (iii) Tipo fibra, quando o CBD é prevalente (Van Bakel et al., 2011; Salentijn et al., 2015; Sawler et al., 2015; Weiblen et al., 2015). Outro critério utilizado para diferenciar estes três quimiotipos é o seguinte: (i) Tipo fibra, contém menos de 0,3% de  $\Delta^9$ -THC e mais CBD; (ii) Tipo intermediário, quando a planta apresenta mais que 0,5% de  $\Delta^9$ -THC e mais do que 0,5% de CBD; e (iii) Tipo droga, quando a concentração de  $\Delta^9$ -THC varia de 2-8% (Trofin et al., 2012).

A genética por trás dos principais quimiotipos da canábis tem sido amplamente investigada e com isso atualmente novos quimiotipos estão sendo considerados. Dois alelos co-dominantes presentes no locus B ( $B_T$  e  $B_D$ ) são os responsáveis pela codificação das enzimas  $\Delta^9$ -THCS e CBDS, sendo que variações na sequência destes locis são responsáveis pelas características dos três quimiotipos de canábis já bem estabelecidos (Onofri, De Meijer e Mandolino, 2015; Salentijn et al., 2015). Esta diferença pode ocorrer em decorrência de: (a) variações de sequência no loci  $B_T$  e/ou  $B_D$  (isto é, a existência de uma série alélica, ou de sequências diferentes para uma ou ambas as sintases), ou (b) polimorfismo de regulação de expressão de elementos em *cis* ou *trans* para o loci estrutural (Onofri, De Meijer e Mandolino, 2015).

Um quarto e quinto quimiotipos são encontrados em menor frequência. No quarto quimiotipo o canabigerol (CBG), precursor dos canabinoides  $\Delta^9$ -THC e CBD, é o principal canabinoide encontrado. Este quimiotipo é mais susceptível de ser controlado pelo alelo  $B_0$ , uma forma mutante do locus  $B_D$ . O quinto quimiotipo tem

quantidades indetectáveis de canabinoides sendo esta característica controlada pelo locus único (O) que opera sobre o locus B. Este quinto quimiotipo provavelmente ocorre devido a um bloqueio na via metabólica que leva à produção de canabinoides e não devido a uma alteração nos tricomas glandulares da planta. Um sexto quimiotipo é encontrado em plantas com um fenótipo morfológico específico, quimiotipo com característica juvenil prolongada, ou seja, produzem canabicromeno (CBC) em plantas jovens e declina com a maturação da planta. Os fatores genéticos que controlam essa característica encontram-se no locus denominado C (Bc) e é independente do loci B que codifica as enzimas  $\Delta^9$ -THCS e CBDS (Salentijn et al., 2015).

### 3.4 Nomenclaturas

Ao longo da história, devido aos quimiotipos existentes e principalmente aos distintos interesses de uso da canábis, diversas nomenclaturas tanto para a planta como para diferentes tipos de preparo são mundialmente conhecidas. As terminologias adotadas são diferenciadas, especialmente, devido ao rendimento relativo às concentrações de  $\Delta^9$ -THC e CDB presentes na planta. *Maconha/marijuana* é o nome utilizado para se referir aos quimiotipos que contém alta potência, ou altas concentrações de  $\Delta^9$ -THC enquanto que os quimiotipos de baixa potência, ou seja, plantas com baixas concentrações de  $\Delta^9$ -THC são chamados de *cânhamo/hemp* (Van Bakel et al., 2011; Sawler et al., 2015; Weiblen et al., 2015).

O cânhamo tem sido cultivado ao longo da história da humanidade e está envolvido na produção de uma variada gama de produtos, utilizado principalmente como fonte de fibras duráveis (Van Bakel et al., 2011; Sawler et al., 2015). Assim, tem integrado importante papel em diversas áreas agroindustriais como a agricultura, a indústria têxtil, na fabricação de papel, na indústria automotiva e na construção (Salentijn et al., 2015). Na indústria alimentícia o cânhamo tem apresentado papel importante na fabricação e desenvolvimento de alimentos funcionais e óleos, uma vez que os aquênios ("sementes") são altamente nutritivos por serem ricos em ácidos graxos e proteínas (Van Bakel et al., 2011; Salentijn et al., 2015; Sawler et al., 2015). Na indústria farmacêutica o cânhamo tem apresentado a aplicabilidade em cosméticos, produtos para cuidados pessoais (Salentijn et al., 2015), e no



desenvolvimento e produção de novos fármacos, para tratamento de enfermidades diversas (Van Bakel et al., 2011; Salentijn et al., 2015; Sawler et al., 2015). Além dos usos já consagrados, uma nova área de aplicação para o cânhamo é a sua utilização como fonte de biocombustíveis. Devido ao elevado teor de celulose que o cânhamo apresenta nas paredes das células, juntamente com a relativa alta produtividade de biomassa (fibra), esta linhagem da planta torna-se uma matéria-prima renovável interessante como fonte de produção de energia, na produção de biomassa, bioetanol e biogás (Amaducci et al., 2015; Salentijn et al., 2015).

Assim como ocorre no cultivo de cânhamo, o interesse pelo cultivo das linhagens de canábis chamadas de maconha também tem relação com suas propriedades medicinais, porém, principalmente pela importante atividade psicoativa que apresenta, sendo utilizada como droga recreativa (Van Bakel et al., 2011; Sawler et al., 2015). Maconha também um dos nomes atribuídos a um tipo de preparo da planta utilizada de forma ilícita, que se refere às folhas secas, flores, caules e sementes da *C. sativa* (Nida, 2016) na forma fumada. Porém, além dos diversos tipos de preparo, uma característica interessante dedicada à canábis é a infindável variedade de nomes dados às suas preparações (*maconha/marijuana, pot, erva daninha/weed, kiff, bhang*, entre outros) (Erkelens e Hazekamp, 2014).

Quando o cigarro de maconha é preparado apenas com partes da planta, manualmente, enrolado junto às mãos, chama-se também *joint*. A utilização da maconha em tubos ou canos contendo água é popularmente conhecida por *bong*, em razão de este ser o nome do aparelho purificador utilizado para fumar qualquer tipo de erva (Nida, 2016). Charutos, em que o tabaco é parcialmente ou totalmente substituído por maconha, são denominados *blunt* (Gloss, 2015; Nida, 2016).

No intuito de evitar a inalação de fumaça, uma opção disponível comercialmente são os vaporizadores. Esses dispositivos têm por finalidade recolher o vapor da maconha em uma unidade de armazenamento, para então o usuário inalar apenas o vapor, não mais a fumaça ocasionada quando a maconha é fumada. A maconha também pode ser utilizada na preparação de chás - *brew* - e, particularmente quando é vendida ou consumida para fins medicinais, é frequentemente misturada em alimentos - *edibles* - como *brownies, cookies* ou doces (Nida, 2016).

*Bhang* trata-se de folhas frescas e flores de canábis moídas e maceradas até formar uma pasta. Juntamente com outras especiarias a *bhang* é utilizada para fazer

uma bebida chamada *Bhagi Ki Thandai* ou esta pasta é transformada em bolas chamadas *bhag golis*. Utilizada na Índia, em Bangladesh, e em outros países como parte de festivais religiosos, também faz parte de um festival chamado *Holi* (Gloss, 2015).

A utilização de resinas concentradas, contendo altas doses de  $\Delta^9$ -THC, está cada vez mais popular, tanto em usuários recreativos, como em usuários medicinais (Raber, Elzinga e Kaplan, 2015; Nida, 2016). Esta resina concentrada extraída da maconha pode apresentar diferentes formas de preparo (Nida, 2016), como *haxixe/hash*, óleo de *haxixe/hash oil* ou *honey oil* - líquido viscoso (Gloss, 2015; Nida, 2016). Quando a extração do  $\Delta^9$ -THC é realizada utilizando principalmente as flores da planta e solvente orgânico, com caráter altamente volátil como solvente extrator, mais comumente o butano, a concentração desse canabinoide pode chegar até 90% (Loflin e Earleywine, 2014; Bell et al., 2015; Daniulaityte et al., 2015). Especificamente este tipo de concentrado, que está apresentando cada vez mais popularidade, pode ser chamado por *wax* ou *budder* - sólido cremoso, com a textura de bálsamo labial, *shatter* - sólido duro com coloração âmbar, *butane hash oil* (BHO) (Bell et al., 2015; Daniulaityte et al., 2015; Nida, 2016), *dabs* (Bell et al., 2015; Raber, Elzinga e Kaplan, 2015), *amber*, *glass* e *honey* (Bell et al., 2015).

*Dabbing* ou coloquialmente falado “fazendo um *dab*”, trata-se de uma nova prática de uso dos concentrados de canábis (*dabs*) pela via inalatória, na qual o indivíduo aplica calor no concentrado de canábis inserido em cima de uma plataforma. Uma vez que o *dab* encontra-se vaporizado, passa por um tubo contendo água - *bong* -, sendo subsequentemente inalado pelo usuário (Loflin e Earleywine, 2014; Daniulaityte et al., 2015; Raber, Elzinga e Kaplan, 2015), utilizado em vaporizadores ou fumado em cigarros eletrônicos (Daniulaityte et al., 2015).

Pouco se sabe sobre os potenciais riscos associados ao (ab)uso do *dab*, quando comparado àqueles associados ao uso da canábis tradicional. Da mesma forma, a utilização da via inalatória pode resultar em uma administração mais rápida, aumentando assim os riscos associados à dependência. O aumento da concentração de  $\Delta^9$ -THC e os novos meios de administração também podem estar associados a problemas relacionados ao aumento da tolerância e abstinência (Loflin e Earleywine, 2014; Daniulaityte et al., 2015; Raber, Elzinga e Kaplan, 2015). Outro perigo inerente ao *dabbing* está diretamente relacionado ao seu próprio método de preparo e

utilização, uma vez que o butano tem sido amplamente utilizado nestes processos e o gás butano por sua vez, é altamente inflamável, volátil, permeia o ar e pode ser facilmente inflamável através da eletricidade estática ou qualquer outra fonte de chama (Loflin e Earleywine, 2014; Bell et al., 2015; Nida, 2016).

Em relação ao uso medicinal, como cada vez mais propriedades farmacológicas oriundas dos canabinoides presentes na canábis estão sendo pesquisadas e descobertas, o número de países que fornecem uma fonte oficial de canábis para tratamento de diversas doenças também está aumentando (Hazekamp e Heerdink, 2013). Porém, quando se trata do uso da canábis para estes fins, o grande desafio é encontrar uma forma de balancear seus usos terapêuticos benéficos com os efeitos adversos, que são observáveis com o uso crônico, em doses altas (Pamplona, 2014).

### 3.5 Legislação

#### 3.5.1 Legislação internacional

Desde 1925, quando houve a Conferência Internacional do Ópio, a posse de canábis tornou-se ilegal na maioria dos países. No entanto, com o passar dos anos, a legalização da planta tanto para uso medicinal e/ou como para o uso recreativo foi aprovada em alguns países. Ainda, em muitos países têm ocorrido a descriminalização da posse de pequenas quantidades de canábis.

Países que apresentam atualmente as leis mais rigorosas, sendo ilegal tanto a posse como a venda, o transporte e o cultivo de canábis são: Afeganistão, Albânia, Algéria, Angola, Arábia Saudita, Armênia, Azerbaijão, Bahrein, Bangladesh, Bielorrússia, Benin, Butão, Bósnia e Herzegovina, Bulgária, Burkina Faso, Burundi, Camarões, Catar, Chade, China, Comores, Cuba, Dinamarca, Djibouti, Dominica, Egito, El Salvador, Emirados Árabes Unidos, Eritreia, Eslováquia, Etiópia, Filipinas, França, Gabão, Geórgia, Gana Guiné, Gronelândia, Guatemala, Guiana, Haiti, Honduras, Hong Kong, Hungria, Iêmen, Indonésia, Iraque, Irlanda, Islândia, Japão, Jordânia, Cazaquistão, Quênia, Kuwait, Quirguistão, Laos, Letônia, Líbano, Libéria, Líbia, Lituânia, Luxemburgo, Macau, Madagascar, Malásia, Malawi, Mali, Mauritânia, Mongólia, Montenegro, Marrocos, Moçambique, Myanmar, Namíbia, Nepal, Nova

Zelândia, Nicarágua, Níger, Nigéria, Marianas Setentrionais, Noruega, Omã, Paquistão, Papua-Nova, Romênia, Ruanda, Senegal, Sérvia, Serra Leoa, Singapura, Somália, África do Sul, Coreia do Sul, Sri Lanka, Sudão, Suriname, Suazilândia, Suécia, Síria, Taiwan, Tajiquistão, Tanzânia, Tailândia, Togo, Trindade e Tobago, Tunísia, Turquia, Turquemenistão, Uganda, Uzbequistão, Venezuela, Vietnã, Zâmbia e Zimbábue (Wikipedia, 2016).

Países que apresentam leis menos restritivas, sendo elas particulares e diversificadas para cada país são: Alemanha, Argentina, Austrália, Áustria, Bélgica, Belize, Bolívia, Botswana, Brasil, Camboja, Canadá, Chile, Colômbia, Costa Rica, Croácia, Chipre, República Checa, Equador, Estados Unidos, Estônia, Finlândia, Grécia, Ilhas Virgens Americanas, Índia, Irã, Israel, Itália, Jamaica, Macedônia, Malta, México, Moldávia, Holanda, Paraguai, Peru, Polônia, Portugal, Porto Rico, Rússia, Eslovênia, Espanha, Suíça, Ucrânia, Reino Unido e Uruguai. Quanto à Coreia do Norte, não há conhecimento sobre as leis referentes à canábis (Wikipedia, 2016).

### 3.5 2 *Legislação brasileira*

Em 30 de março de 1961 foi assinada em Nova York a Convenção Única sobre Entorpecentes, e, no Brasil, esta Convenção foi promulgada através do Decreto nº 54.216 de 27 de agosto de 1964, pelo então Presidente da República Humberto de Alencar Castelo Branco. Esta Convenção foi uma tentativa de harmonizar as ações de diversos países em relação aos entorpecentes, através dos seus 51 artigos, com detalhes de fiscalização, substâncias a serem controladas, limites de fabricação de substâncias, órgãos de controle, entre outras diretrizes (Todeschini, 2012). O Artigo 1 - Definições desta Convenção traz nos seus itens “c” e “d” as seguintes definições:

“(c) *Planta de Cannabis é toda planta do gênero Cannabis.*

“(d) *Resina de Cannabis é a resina separada, em bruto ou purificada, obtida da planta de Cannabis”.*

Desta forma, observa-se que o texto da Convenção foi bastante amplo no alcance da definição de *Cannabis*, abrangendo as plantas deste gênero, independente de discussões sobre espécies ou variedades. Nesta Convenção foram criadas quatro listas de substâncias sujeitas a controle (Todeschini, 2012), e a maconha ficou incluída nas Listas I e IV, na seguinte forma:

“...*Entorpecentes incluídos na Lista I – Cannabis (resina, extratos e tinturas)*...”

*Entorpecentes incluídos na Lista IV – Cannabis e sua resina;...”*

Em 14 de Março de 1977 foi promulgada a Convenção sobre Substâncias Psicotrópicas, em função da aprovação pelo Congresso Nacional do texto da Convenção sobre Substâncias Psicotrópicas em Viena, no ano 1971. Esta Convenção contém 33 artigos que tratam de diretrizes para controle de fabricação, comércio, medidas de fiscalização, além de ações para inibir o tráfico de substâncias psicotrópicas. Também são elencadas 4 listas, sendo que na Lista I constou no item 10 a descrição TETRAHIDROCANNABINOL e a denominação química 1-hidroxi-3-pentil-6a-7,10,10a-tetrahidro-6,6,9-trimetil-6H-dibenzo(b,d)pirano (Todeschini, 2012).

Assim sendo, nesta norma internacional é possível observar a introdução de um dos canabinoides originados da *Cannabis sativa* L. como uma substância psicotrópica, capaz de causar dependência, e não a resina da planta, como constava até então na Convenção Única sobre Entorpecentes, de 1961. Este refinamento, na caracterização de substâncias capazes de induzir dependência, foi fruto do avanço no estudo da composição química da planta de *Cannabis sativa* L., com o isolamento de canabinoides, sua elucidação estrutural e posteriores estudos fitoquímicos, farmacológicos e toxicológicos (Todeschini, 2012).

Em 1998 foi promulgada a Portaria nº 344 pela Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, aprovando o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. Esta Portaria foi um avanço nesta área de psicotrópicos no Brasil, contendo 110 artigos, com capítulos dedicados à Autorização, Comércio, Transporte, Prescrição, além da criação de dezesseis Listas contendo todas as substâncias psicotrópicas e entorpecentes proscritas no país, com detalhes para o controle das mesmas. Esta Portaria revogou inúmeros dispositivos legais vigentes até então, unificando todo o controle numa só normatização. Estas Listas sofrem acréscimos ou supressões ao longo do tempo, bem como mudanças de classificação, mas a Portaria mantém-se igual desde sua promulgação (Brasil, 1998). A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 63, de 17 de outubro de 2014 (Brasil, 2014), é uma atualização destas listas (Todeschini, 2012), onde na lista E (LISTA DE PLANTAS PROSCRITAS QUE PODEM ORIGINAR SUBSTÂNCIAS ENTORPECENTES E/OU PSICOTRÓPICAS) consta no item 1 “*Cannabis sativa*” e nos adendos desta Lista:

“ADENDO:

1) ficam proibidas a importação, a exportação, o comércio, a manipulação e o uso das plantas enumeradas acima.

2) ficam também sob controle, todas as substâncias obtidas a partir das plantas elencadas acima, bem como os sais, isômeros, ésteres e éteres destas substâncias”.

A lista F2 desta RDC nº 63/2014 (LISTA F2 - SUBSTÂNCIAS PSICOTRÓPICAS) traz no seu item 75 a substância Tetrahydrocannabinol ou THC. Nos adendos desta Lista:

“ADENDO:

1) ficam também sob controle:

1.1. todos os sais e isômeros das substâncias enumeradas acima, sempre que seja possível a sua existência.

1.2. os seguintes isômeros e suas variantes estereoquímicas da substância TETRAHIDROCANNABINOL:

7,8,9,10-tetrahidro-6,6,9-trimetil-3-pentil-6H-dibenzo[b,d]pirano-1-ol

(9R,10aR)-8,9,10,10a-tetrahidro-6,6,9-trimetil-3-pentil-6H-dibenzo[b,d]pirano-1-ol

(6aR,9R,10aR)-6a,9,10,10a-tetrahidro-6,6,9-trimetil-3-pentil-6H-dibenzo[b,d]pirano-1-ol

(6aR,10aR)-6a,7,10,10a-tetrahidro-6,6,9-trimetil-3-pentil-6H-dibenzo[b,d]pirano-1-ol

6a,7,8,9-tetrahidro-6,6,9-trimetil-3-pentil-6H-dibenzo[b,d]pirano-1-ol

(6aR,10aR)-6a,7,8,9,10,10a-hexahidro-6,6-dimetil-9-metileno-3-pentil-6H-dibenzo[b,d]pirano-1-ol”

Em janeiro de 2015 foi publicada a RDC nº 03 de 26 de janeiro de 2015 (Brasil, 2015a), a fim de estabelecer as seguintes modificações: na LISTA C1 (OUTRAS SUBSTÂNCIAS SUJEITAS A CONTROLE ESPECIAL) consta no item 21 a substância Canabidiol ou CBD. Nos adendos desta Lista:

“ADENDO:

1) ficam também sob controle:

1.1. os sais, éteres, ésteres e isômeros das substâncias enumeradas acima, sempre que seja possível a sua existência;

1.2. os sais de éteres, ésteres e isômeros das substâncias enumeradas acima, sempre que seja possível a sua existência.

1.3 o disposto nos itens 1.1 e 1.2 não se aplica à substância canabidiol”.

No mesmo ano, após meses e discussões a respeito do uso terapêutico do CBD no Brasil, foi publicada a RDC nº 17, de 6 de maio de 2015 (Brasil, 2015b), que “Define os critérios e os procedimentos para a importação, em caráter de excepcionalidade, de produto à base de Canabidiol em associação com outros canabinoides, por pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde” tornando viável a importação de cinco produtos à base de canabidiol no país para utilização com finalidade medicamentosa.

A última atualização da Portaria nº 344 referente ao tema em questão é de 18 de março de 2016 e corresponde a RDC nº 66/2016 (Brasil, 2016) que, além de atualizar as substâncias proscritas, também faz um adendo em cumprimento da decisão judicial proposta pelo Ministério Público Federal que permite a prescrição médica e a importação, por pessoa física, de produtos farmacêuticos que contenham as substâncias CBD e  $\Delta^9$ -THC em sua formulação, exclusivamente para uso próprio e para tratamento de saúde.

### 3.6 Métodos de análise química

#### 3.6.1 Espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS)

Infravermelho próximo (NIR) é o nome dado à região do espectro eletromagnético imediatamente superior à região visível em termos de comprimento de onda, ou seja, trata-se da região do infravermelho mais próxima da região visível (Pasquini, 2003; Lima e Bakker, 2011). Uma vez que a luz é uma forma de onda eletromagnética, apresenta um campo elétrico e um campo magnético, que se propaga em determinado espaço em forma de energia e que é produzida através da aceleração de uma carga elétrica em um campo magnético. Por sua vez, a energia transportada por uma onda depende unicamente da frequência ou do comprimento da onda, visto que ambos estão relacionados pela velocidade da luz e esta é uma constante universal (Pasquini, 2003). A espectroscopia estuda a interação das radiações eletromagnéticas com moléculas ou partículas, portanto, a NIRS consiste na exposição de uma amostra ao espectro da região de comprimento de onda de 780 nm - 2.5  $\mu\text{m}$  ( $12.800 - 4.000 \text{ cm}^{-1}$ ) e região de frequência de  $3,8 \times 10^{14}$  Hz até aproximadamente os  $1,2 \times 10^{14}$  Hz (Pasquini, 2003; Lima e Bakker, 2011) com a finalidade de obter informações qualitativas e quantitativas provenientes da interação das ondas eletromagnéticas no NIR com os constituintes de uma amostra (Pasquini, 2003; De Muñiz et al., 2012).

A NIRS é uma técnica analítica que pode ser amplamente utilizada para analisar qualquer amostra que apresente grupos funcionais orgânicos (C-H, N-H, S-H e OH), além de outras vantagens, como o fato da necessidade de mínimo preparo da

amostra, análise rápida (1 min ou menos), análise não destrutiva da amostra e não invasiva. Pode ser utilizada em procedimentos que necessitem analisar amostras nas mais diversas áreas como agrícola, alimentícia, médica, têxtil, de cosméticos, de polímeros, de tintas, ambiental, petroquímica, farmacêutica e florestal (Pasquini, 2003; De Muñiz et al., 2012).

As determinações quantitativas somente são possíveis através de prévia correlação entre os valores do parâmetro de interesse para um determinado grupo de amostras e os espectros obtidos. Os espectros no infravermelho próximo apresentam difíceis atribuições de picos e são frequentemente largos e sobrepostos, sendo assim, os dados espectrais são tratados, atualmente, com o uso de técnicas multivariadas. Portanto, para a caracterização de uma amostra desconhecida por NIRS, além da obtenção de seu espectro há necessidade de uso de um modelo estatístico previamente construído para a predição ou classificação de suas propriedades (De Muñiz et al., 2012).

### *3.6.2 Cromatografia à gás (CG)*

A CG é uma técnica utilizada para separação e análise de misturas de gases ou compostos voláteis que sejam termicamente estáveis, por meio de um tubo estreito. Conhecido como coluna, este tudo apresenta no seu interior um recheio específico denominada fase estacionária. Os diferentes constituintes de uma amostra são arrastados pela fase estacionária através de um determinado fluxo contínuo que se dá a partir de uma corrente de gás (gás condutor ou transportador, a fase móvel). Assim, dependendo das propriedades físico-químicas das substâncias presentes na amostra e suas interações com a fase estacionária, ocorre à saída de cada analito da coluna em um tempo diferente (tempo de retenção). Além disso, outros parâmetros que podem ser usados para alterar a ordem ou tempo de retenção são a taxa de fluxo do gás condutor e a temperatura. A utilização de um detector é empregada para monitorar o fluxo de saída da coluna, possibilitando detectar o momento em que cada substância sai, além de quantificar os compostos presentes em determinada amostra (Bonato, 2006).

O poder de resolução desta técnica torna possível a análise de amostras contendo inúmeras substâncias. Outra vantagem da CG refere-se aos baixos limites



de detecção, considerada excelente técnica quantitativa, fornecendo resultados em concentrações que variam de picogramas a miligramas. Contudo, o principal inconveniente da técnica é que a CG só pode ser empregada na análise de substâncias que sejam voláteis e termicamente estáveis. Além disso, apesar da análise cromatográfica ser relativamente rápida, para evitar que haja interferências durante a análise e contaminação da coluna cromatográfica, na maioria das vezes há a necessidade de preparação da amostra antes que ela possa ser analisada (Bonato, 2006).

### 3.6.3 Espectrometria de massas (EM)

A EM é uma técnica que tem por objetivo principal identificar um analito, em especial na presença de outros analitos, com base na medição da massa do íon do analito (Hoffmann e Stroobant, 2007; Romão, 2010; Banerjee e Mazumdar, 2012; Nikolaev, Kostyukevich e Vladimirov, 2016). Trata-se de uma metodologia de análise em que as moléculas de interesse presentes em determinada amostra são ionizadas e sequencialmente os íons são separados conforme suas diferentes razões de massa/carga ( $m/z$ ). Sendo assim, a EM não analisa átomos ou moléculas neutras, apenas espécies iônicas. Para que ocorra a separação dos íons, primeiramente é necessário gerá-los, através da utilização de um sistema de ionização ou fonte de íons. Portanto, uma vez que existem diferentes tipos de fonte de ionização e analisadores de massas, ambos são determinantes da aplicabilidade da EM (Hoffmann e Stroobant, 2007; Romão, 2010; Banerjee e Mazumdar, 2012).

A variedade de sistemas de ionização existente determina a versatilidade da EM, uma vez que cada fonte de íons resulta em diferentes tipos de analitos. As considerações mais importantes no processo de ionização referem-se à energia interna transferida durante o processo de ionização e as propriedades físico-químicas da molécula a ser ionizada. Algumas técnicas de ionização são muito enérgicas, causando grande fragmentação da molécula, e outras, mais suaves produzem apenas a ionização da molécula (Hoffmann e Stroobant, 2007; Romão, 2010; Banerjee e Mazumdar, 2012).

Diferentes analisadores de massas apresentam características distintas, principalmente com relação à resolução e exatidão, conforme sua eletrônica e o

princípio físico utilizado para determinar as razões  $m/z$  medidas nas amostras analisadas. A diferença entre um analisador de massa unitária e um analisador de alta resolução é que, enquanto o primeiro mede a massa nominal, o segundo mede a massa exata de cada isótopo mais abundante, sendo possível atribuir fórmula molecular para cada sinal resolvido. Portanto, a resolução é definida como a capacidade do analisador de medir a razão  $m/z$  com a menor diferença possível da  $m/z$  teórica, possibilitando inferir uma fórmula molecular baseada nos defeitos de massa. Defeito de massa é a diferença entre a soma das massas dos nêutrons e dos prótons que formam um átomo e a massa real deste átomo. O defeito de massa é em base associado à inércia da energia de ligação das partículas elementares no núcleo ( $E=mc^2$ ) e seu valor é considerado como uma medida do grau de estabilidade do núcleo. A exatidão, por sua vez, é medida pelo erro calculado em partes por milhão (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. Logo, quanto menor for o erro, maior será a probabilidade de a fórmula molecular atribuída ser a verdadeira (Hoffmann e Stroobant, 2007; Romão, 2010; Banerjee e Mazumdar, 2012; Nikolaev, Kostyukevich e Vladimirov, 2016).

#### *3.6.3.1 Espectrômetro de massas por ressonância ciclôtrica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR MS)*

O FT-ICR MS até o momento é considerado um dos tipos mais complexos de analisadores de massas fornecendo o maior poder de resolução e precisão de massa (Hoffmann e Stroobant, 2007; Nikolaev, Kostyukevich e Vladimirov, 2016). Trata-se de um analisador híbrido que apresenta na sua configuração um íon trap linear – *linear ion trap* (LIT) e uma cela de ressonância ciclôtrica de íons (ICR), unindo a alta sensibilidade do LIT com a altíssima resolução do ICR (Hoffmann e Stroobant, 2007).

O LIT corresponde a um analisador de massas que faz uso da estrutura básica de um quadrupolo – arranjo de quatro cilindros metálicos, no entanto, em vez de filtrar os íons de todas as razões  $m/z$  ele é utilizado para capturar os íons e fazer uma ejeção radial para o analisador ICR. Com relação ao ICR, este determina a razão  $m/z$  dos íons a partir da frequência ciclôtrica dos mesmos, na presença de um campo

magnético espacialmente uniforme, sendo esta frequência inversamente proporcional à razão  $m/z$  (Hoffmann e Stroobant, 2007).

Em geral, a cela de ICR localiza-se no centro de um magneto supercondutor que fornece um campo magnético homogêneo. A cela é constituída, basicamente, por três pares de pratos opostos responsáveis pelo aprisionamento, excitação e detecção dos íons. O campo magnético é orientado pelo eixo central da cela (eixo z), fazendo com que os íons executem o movimento ciclotrônico no plano centrado no eixo cilíndrico (Marshall e Schweikhard, 1992).

Os íons gerados em determinada fonte de íons são aprisionados na cela de ICR, também denominada de *penning trap*, onde cada íon começa a se movimentar em uma determinada posição pela ação do campo magnético uniforme. Contudo, o sinal do campo magnético é detectável apenas se os íons apresentarem um movimento sincronizado (em fase). A fim de obter essa sincronicidade, um campo elétrico espacialmente uniforme é aplicado com a mesma frequência ciclotrônica, tornando os movimentos dos íons detectáveis. Sendo assim, o sinal do ICR, denominado domínio de tempo, é resultante da corrente oriunda da detecção de uma imagem oscilante de uma carga ao se aproximar de dois eletrodos condutores opostos paralelamente. O espectro em domínio de frequência é obtido pela transformada de Fourier em um sinal de ICR digitalizado no domínio de tempo. Após conversão matemática este é transformado em domínio de massas ou, espectro de massas (Hoffmann e Stroobant, 2007; Nikolaev, Kostyukevich e Vladimirov, 2016).

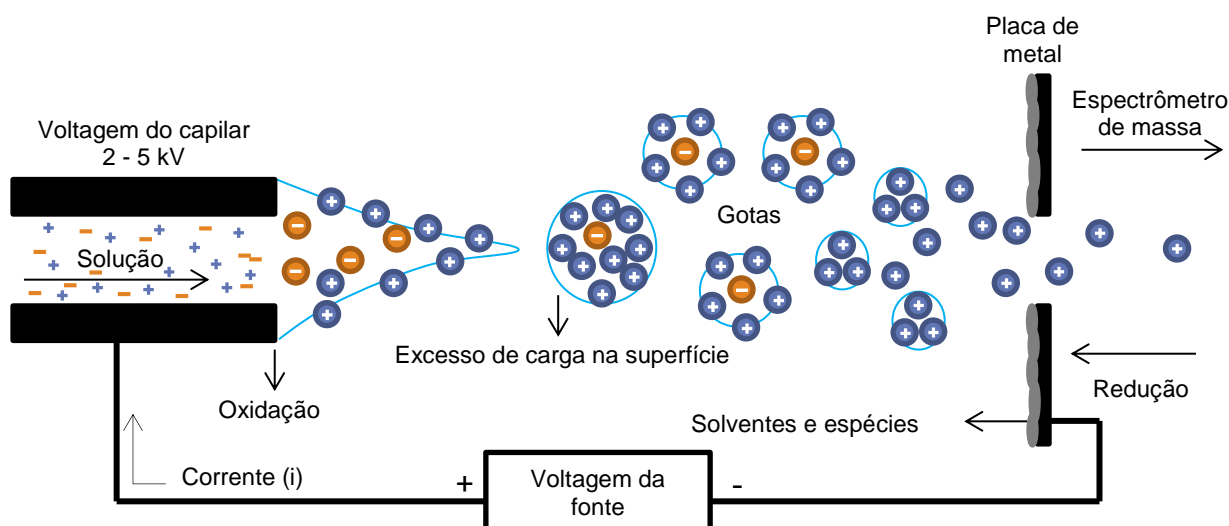
O controle do número de íons dentro da cela de ICR é essencial para a obtenção de valores ótimos de resolução, exatidão e sinal/ruído. O efeito *space charge* altera o movimento dos íons dentro da cela de ICR, podendo aumentar o tamanho do pacote de íons dentro da cela, produzindo uma maior dispersão dos íons e conseqüentemente, diminuindo a resolução. Do mesmo modo, a alta densidade de carga na cela de ICR provoca fenômenos de coalescência que diminuem rapidamente o sinal de transiente. A altíssima resolução é obtida quando o sinal do transiente é coletado por períodos relativamente longos, que precisam ser controlados a fim de evitar perdas de resolução (Hoffmann e Stroobant, 2007; Nikolaev, Kostyukevich e Vladimirov, 2016). A ultra-alta resolução é devida, portanto, a quantidade de voltas que um determinado íon percorre ao ser excitado na presença de um campo magnético (Marshall e Schweikhard, 1992).

O principal parâmetro a ser controlado na cela de ICR é a quantidade de íons dentro deste analisador, mantendo um valor ótimo usualmente menor que  $10^7$  (para celas de 1 cm de diâmetro). Isso assegura que as interações espaciais de cargas sejam minimizadas, permitindo a esse analisador medir  $m/z$  com alto valor de resolução e exatidão (Hoffmann e Stroobant, 2007; Nikolaev, Kostyukevich e Vladimirov, 2016).

### 3.6.4 Ionização por eletrospray (ESI)

A técnica de ESI (Figura 14) trata-se de um método de ionização menos agressivo, o que geralmente reduz a fragmentação de moléculas antes de serem analisadas no analisador de massas (Kujawinski, 2002; Hangel e Facchini, 2008; Banerjee e Mazumdar, 2012) sendo aplicado especificamente para ionizar moléculas presentes em amostras em solução (Kujawinski, 2002).

**Figura 14** Processo de ionização por ESI.



Fonte: Adaptado de Banerjee e Mazumdar (2012).

Na ionização por ESI, a amostra é misturada a uma grande quantidade de algum solvente volátil e em meio básico ou ácido, a fim de ocorrer a protonação ou desprotonação das moléculas presentes na solução. A seguir, 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. A aplicação direta de uma

voltagem no capilar (2 – 5 kV) produz a nebulização da amostra em gotículas carregadas. Consequentemente, com a secagem do solvente, as gotículas carregadas vão aumentando a densidade de cargas até o ponto em que ocorre um fenômeno chamado explosão coulômbica, ou seja, a liberação dos íons a partir da gotícula. Assim, são formadas gotículas que, com a secagem, liberam os íons com carga (Kujawinski, 2002; Hangel e Facchini, 2008; Banerjee e Mazumdar, 2012).

Existem dois modelos de mecanismos que propõem como os íons finalmente são transferidos para a fase gasosa. Um deles foi proposto por Dole em 1968, denominado de CRM ou modelo de carga residual (Dole et al., 1968), o qual depende da formação de gotas carregadas extremamente pequenas, geradas a partir de sucessivas explosões de Coulomb, que contenha somente um íon, sendo assim, com a evaporação do solvente, restará apenas um único íon em fase gasosa. O outro mecanismo, proposto por Thomson e Iribarne é o modelo de evaporação do íon (IEM – Ion Evaporation Model). A emissão dos íons ocorre diretamente de gotas muito pequenas e altamente carregadas, onde os íons são expulsos das gotas devido à repulsão eletrostática entre as moléculas de mesma carga (Kitson et al., 1996).

Durante a ionização por eletrospray, três tipos de íons podem ser gerados: íons moleculares, moléculas protonadas/desprotonadas (íons quasi-moleculares) e moléculas cationizadas ou anionizadas. A extensão com a qual cada um destes íons é formado pode ser compreendida em termos do balanço entre três processos essencialmente distintos, que ocorrem no interior do capilar: reações redox (oxidação/redução), que produzem íons moleculares ( $M^{+•}$ ) ou ( $M^{-•}$ ); reações ácido/base (protonação/desprotonação), que resultam na formação de moléculas protonadas ( $[M+H]^+$  ou desprotonadas  $[M-H]^-$ ) e, na forma de adutos, por coordenação com cátions (geralmente os da família 1A) ou ânions (principalmente cloretos), que leva à formação de moléculas cationizadas ( $[M+Na]^+$ ,  $[M+K]^+$ , ou anionizadas  $[M+Cl]^-$  etc) (Kujawinski, 2002; Hangel e Facchini, 2008; Romão, 2010; Banerjee e Mazumdar, 2012).

### 3.7 Métodos quimiométricos

Quimiometria refere-se ao uso de ferramentas computacionais que envolvem as áreas da matemática e estatística que possibilitam maximizar informações

extraídas de um conjunto de dados (Morgano, De Queiroz e Ferreira, 1999; Ferreira, 2015), como por exemplo, explorando os resultados obtidos por meio de análises químicas, a fim de verificar a existência de similaridades entre as amostras que, por sua vez, correspondem às semelhanças na composição química. Uma das principais vertentes do uso da estatística multivariada em química analítica é o reconhecimento de padrões em amostras, viabilizando assim a obtenção de mais informações do conjunto do que quando comparado com os procedimentos univariados adotados, possibilitando, por exemplo, identificar a origem das amostras estudadas (Correia e Ferreira, 2007; Ferreira, 2015).

Os métodos quimiométricos utilizados para identificar as semelhanças e as diferenças dentro do grupo de amostras analisadas, além de classificá-las e agrupá-las, estão divididos entre “métodos não supervisionados” e “métodos supervisionados”. Em comum, ambos os métodos se baseiam na validade das seguintes suposições: 1) As amostras do mesmo tipo são semelhantes; 2) Existem diferenças significativas entre diferentes tipos de amostras; e, 3) O conjunto de medidas disponíveis é capaz de detectar as semelhanças e diferenças. Contudo, nos métodos supervisionados, cada amostra analisada provém de uma classe preestabelecida, enquanto que nos métodos não supervisionados não há nenhum conhecimento prévio a respeito da classificação das amostras (Ferreira, 2015).

Para as análises quimiométricas serem realizadas, os dados químicos obtidos através das análises de determinadas amostras devem estar dispostos no formato de uma matriz, onde cada amostra é disposta em linhas e suas variáveis em colunas. Após montada a matriz, os dados experimentais originais podem não ter uma distribuição adequada para as análises, por exemplo, quando são realizadas medidas em diferentes unidades e variáveis com diferentes variâncias, dificultando assim, a extração de informações úteis e interpretação dos mesmos. Nestes casos é muito importante a realização de um pré-processamento nos dados originais. Os métodos de pré-processamento mais utilizados consistem basicamente em centrar na média ou auto-escalar os dados. No primeiro caso, calcula-se a média dos valores experimentais para cada variável e subtrai-se cada valor experimental do respectivo valor médio. Auto-escalar significa centrar os dados na média e dividi-los pelo respectivo desvio-padrão, sendo um para cada variável (Morgano, De Queiroz e Ferreira, 1999; Ferreira, 2015).

### 3.7.1 Métodos não supervisionados

Os métodos não supervisionados, também chamados de métodos de análise exploratória de dados, não utilizam informações a respeito das classes a serem formadas nos cálculos, ou seja, não há preocupação de construir uma regra preditiva. São métodos mais simples e ao mesmo tempo mais eficazes para o reconhecimento de padrões e classificação de amostras (Ferreira, 2015) a partir da análise visual dos resultados experimentais. A análise por agrupamento hierárquico (HCA) e a análise de componentes principais (PCA) são dois exemplos de métodos matemáticos não supervisionados mais utilizados e que permitem a visualização gráfica de todo o conjunto de dados, mesmo quando o número de amostras e variáveis é elevado (Correia e Ferreira, 2007; Ferreira, 2015).

#### 3.7.1.1 Análise por agrupamentos hierárquicos (HCA)

A HCA trata-se de um método adequado para descobrir “padrões naturais” de comportamento em um conjunto de amostras, agrupando-as em classes com base na similaridade dos grupos de uma mesma classe e nas diferenças entre os membros de classes diferentes. A finalidade é maximizar a homogeneidade interna, dentro os grupos, e maximizar a heterogeneidade entre eles (Correia e Ferreira, 2007; Ferreira, 2015). Uma maneira de determinar o quanto um objeto é semelhante ao outro é através do cálculo da distância entre eles, sendo a distância Euclidiana (Equação 1) um exemplo de medida de distância utilizado (Ferreira, 2015).

**Equação 1** Distância euclidiana entre os pontos  $P = (p_1, p_2, \dots, p_n)$  e  $Q = (q_1, q_2, \dots, q_n)$ , em um espaço euclidiano n-dimensional.

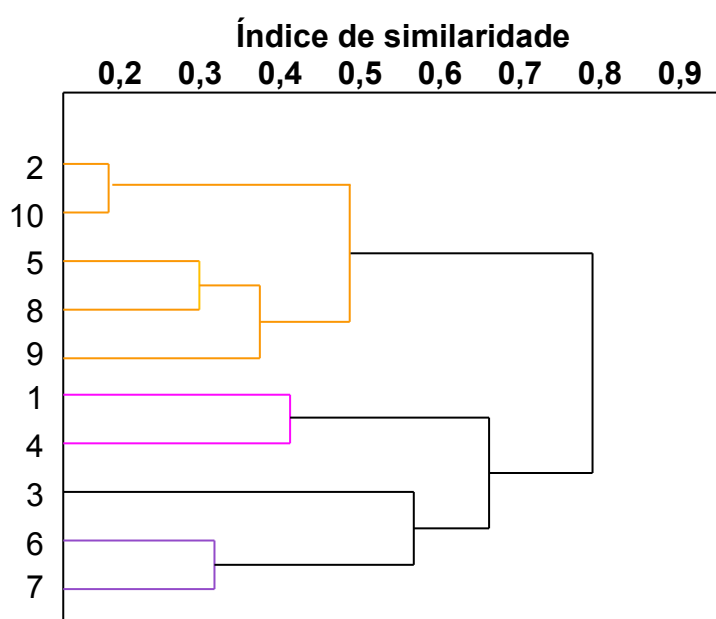
$$\sqrt{\sum_{i=1}^n (p_i - q_i)^2}$$

Fonte: Adaptado de Ferreira (2015).

A representação gráfica obtida a partir da HCA é chamada de dendrograma (Figura 15), um gráfico bidimensional na forma de uma árvore hierárquica, em que os ramos da árvore representam o grau de similaridade entre as amostras (Correia e

Ferreira, 2007; Ferreira, 2015). As amostras podem ser agrupadas hierarquicamente de duas maneiras distintas, de forma aglomerativa ou de forma distintiva. A HCA é um método aglomerativo, onde primeiro passo do processo considera cada objeto como um grupo único (elemento unitário) e segue agrupando-os sistematicamente, conforme a similaridade, até que todos os elementos formem um único grupo (Ferreira, 2015).

**Figura 15** Dendrograma formado por dez amostras, usando as menores distâncias entre os grupos como critério de agrupamento.



Fonte: Adaptado de Ferreira (2015).

Por ser uma técnica aglomerativa, assume-se inicialmente que cada amostra representa um grupo separado e que, cada amostra representa um ponto em um espaço multidimensional. Sendo assim, a distância entre dois pontos é o parâmetro utilizado para visualizar as amostras no dendrograma onde as amostras mais próximas entre si são também as mais semelhantes em relação às variáveis consideradas e as amostras mais distantes entre si são também as que apresentam mais dissimilaridade entre as mesmas (Morgano, De Queiroz e Ferreira, 1999; Ferreira, 2015).

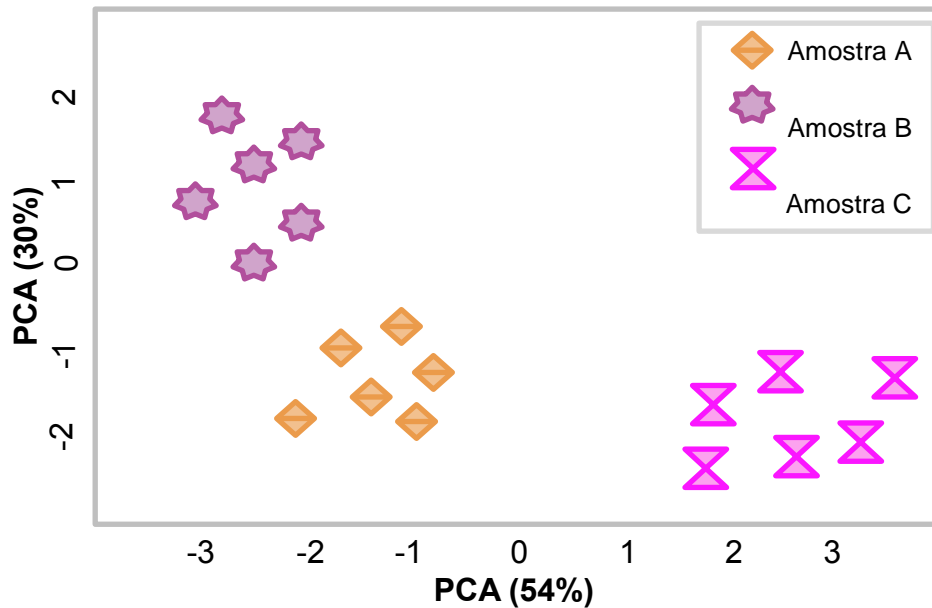


### 3.7.1.2 Análise por componentes principais (PCA)

A PCA consiste em projetar os dados multivariados em um espaço de dimensão menor, reduzindo assim a dimensionalidade do espaço original do conjunto de dados sem que as relações entre as amostras sejam afetadas (Figura 16). Com essa metodologia não só é possível descobrir, visualizar e interpretar as diferenças existentes entre as variáveis e avaliar as relações que podem existir entre as amostras, mas também, detectar amostras que apresentem um comportamento distinto, uma vez que com a projeção dos dados elas tendem a se tornar evidentes (Ferreira, 2015). Assim, na PCA ocorre a transformação da matriz de dados, com o objetivo de representar as variações presentes em muitas variáveis, através de um número menor de “fatores”, também denominados de componentes principais (CP’s) (Morgano, De Queiroz e Ferreira, 1999; Ferreira, 2015). Portanto, constrói-se um novo sistema de eixos que são denominados rotineiramente de fatores, componentes principais, variáveis latentes ou ainda autovetores, para representar as amostras, no qual a natureza multivariada dos dados pode ser visualizada em poucas dimensões. Estas novas variáveis são obtidas em ordem decrescente de quantidade de informação estatística que descrevem, ou seja, a primeira componente principal aponta a direção de maior variação dos dados, a segunda, que é ortogonal à primeira, aponta outra direção que descreve a maior variação restante dos dados e assim por diante (Morgano, De Queiroz e Ferreira, 1999; Ferreira, 2015).

Com a utilização da notação matricial, as componentes principais são obtidas por meio de transformações lineares conforme a equação:  $\mathbf{X P} = \mathbf{T}$ , onde, matematicamente, ocorre a decomposição da matriz principal ou matriz original dos dados ( $\mathbf{X}$ ) em outras duas matrizes: a matriz de escores ( $\mathbf{T}$ ), a qual contém as coordenadas das amostras no novo sistema de eixos; e a matriz de pesos/*loadings* ( $\mathbf{P}$ ), onde os elementos de cada coluna correspondem aos coeficientes das combinações lineares das variáveis originais. Entre as vantagens destas transformações, além de poder escolher as variáveis originais mais importantes do ponto de vista estatístico, está o fato de que os ruídos experimentais podem ser eliminados, uma vez que estes não estão correlacionados com as informações contidas na matriz de dados original (Morgano, De Queiroz e Ferreira, 1999; Ferreira, 2015).

**Figura 16** Representação gráfica de três grupos de amostras projetadas nas componentes principais (CP's) 1 e 2.



Fonte: Adaptado de Ferreira (2015).

Por fim, a PCA baseia-se na correlação entre variáveis agrupando aquelas que estão altamente correlacionadas. As colunas da matriz de *loadings* correspondem aos autovetores da matriz de correlação (ou variância e covariância dependendo do pré-processamento utilizado), enquanto os autovalores representam uma fração da variância total dos dados. Assim, cada componente principal descreve uma porcentagem da variância total dos dados (Morgano, De Queiroz e Ferreira, 1999; Ferreira, 2015).

### 3.7.2 Métodos supervisionados

Os métodos de classificação, também de métodos supervisionados de reconhecimento de padrões, são eficazes quando o objetivo é construir um modelo para classificar amostras desconhecidas. Sendo assim, nestes casos o foco é a construção de modelos de classificação em que a propriedade de interesse é categórica (discreta), ao contrário dos métodos não supervisionados, em que a propriedade de interesse é contínua. Nos estudos de classificação cada amostra é descrita por um conjunto de medidas experimentais, ou “padrão”, e são classificadas

de acordo com uma propriedade de interesse. A determinação da propriedade de interesse ao atribuir uma amostra à sua respectiva classe chama-se de “reconhecimento” (FERREIRA, 2015).

Em se tratando das análises supervisionadas, uma série representativa de cada classe das amostras é selecionada e para cada uma destas é definido um padrão a partir das medidas experimentais coletadas. Esse grupo de amostras é denominado “conjunto de treinamento”, uma vez que a propriedade de interesse, ou seja, a classe à qual cada uma delas pertence já é conhecida. A partir das informações das classes do conjunto de treinamento, um modelo empírico ou uma regra de classificação é construído e por isso são denominados supervisionados. Uma vez obtido o modelo empírico, antes da sua utilização devem ser realizados testes, preferencialmente com amostras teste ou de validação, a fim de verificar a capacidade do modelo de prever com sucesso a classe das novas amostras (Ferreira, 2015).

Ademais, conforme a suposição utilizada para a construção do modelo, os métodos de classificação podem ser agrupados em duas categorias, sendo elas: 1) Paramétricos: são métodos que assumem o conhecimento da função de densidade de probabilidade de cada classe. Consideram que as variáveis satisfazem a distribuição normal e usam a homogeneidade da matriz de variância-covariância das classes para definir e posicionar o hiperplano ou a região limitada de classificação; 2) Não paramétricos: são métodos em que a distribuição dos dados de cada classe não é conhecida, não pode ser estimada ou quando se sabe que a distribuição não é normal. Geram discriminantes baseados na matriz dos dados e no conhecimento a priori da classe de cada amostra, sem considerar qualquer informação a respeito das medidas estatísticas e de suas distribuições (Ferreira, 2015).

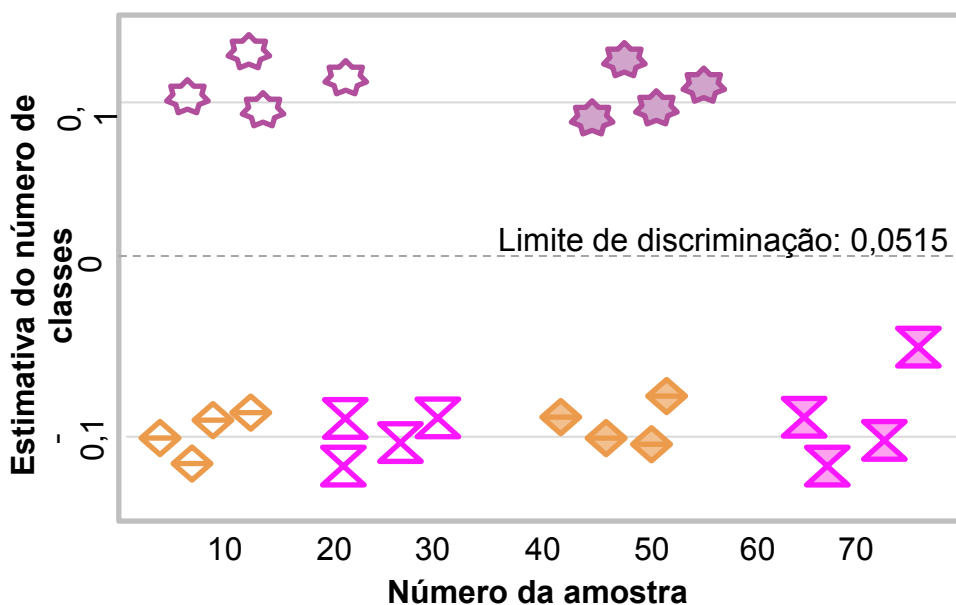
#### *3.7.2.1 Análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA)*

A PLS-DA trata-se de um método supervisionado que modela a relação entre os dados analíticos e os objetos das classes amostrais (De Maesschalck et al., 1999) utilizando o método de regressão denominado mínimos quadrados parciais (PLS) (De Maesschalck et al., 1999; Ferreira, 2015). Primeiramente, PLS é um modelo de regressão bilinear e de um bloco e um vetor ( $\mathbf{X}$  e  $\mathbf{y}$ ). Define-se que o bloco ( $\mathbf{X}$ ) contém as respostas instrumentais medidas para uma série de amostras de referência,

constituindo o conjunto de calibração cujas variáveis são designadas variáveis independentes. O conjunto de vetores chamado variável dependente contém os valores de uma única propriedade de interesse de cada uma das amostras de referência representado por  $y$  (Ferreira, 2015).

Para o método PLS, cada variável latente que relaciona  $X$  e a propriedade de interesse  $y$ , é obtida maximizando a covariância entre os escores  $t$ , da matriz  $X$ , e  $y$ . Os escores  $t$  tratam-se das novas coordenadas de uma amostra quando projetadas no sistema de eixos das componentes principais. Assim, devido à definição dos fatores uma otimização da decomposição está sendo realizada na direção da previsão da propriedade  $y$  (Ferreira, 2015).

**Figura 17** Representação gráfica dos resultados da classificação para o modelo PLS-DA. Estão incluídos: o limite entre as classes (0,0515) e os valores originalmente atribuídos a cada uma delas (+1 e -1).



Fonte: Adaptado de Ferreira (2015).

Por fim, para a PLS-DA, define-se que o bloco das variáveis dependentes do conjunto de treinamento ( $Y$ ) consiste de um conjunto de vetores ( $y$ ) contendo números inteiros que codificam a classe da amostra, sendo um vetor para cada classe. Após a definição das variáveis dependentes o próximo passo a ser realizado é a construção do modelo utilizando o PLS, sendo identificadas e excluídas amostras atípicas e

determinado o número de fatores no modelo (De Maesschalck et al., 1999; Ferreira, 2015).

Os valores da variável dependente estimado pelo modelo final ( $\hat{y}_i$ ) não são os números inteiros atribuídos originalmente, mas valores reais que devem estar próximos dos números originais. Esses valores devem ser definidos seguindo algum critério como a regra de decisão de Teorema de Bayes (De Maesschalck et al., 1999; Ferreira, 2015). Por fim, montando um gráfico dos resultados (Figura 17), confirma-se a correta classificação das amostras (Ferreira, 2015).

### 3.7.2.2 *Análise discriminante por máquina de vetores de suporte (SVM-DA)*

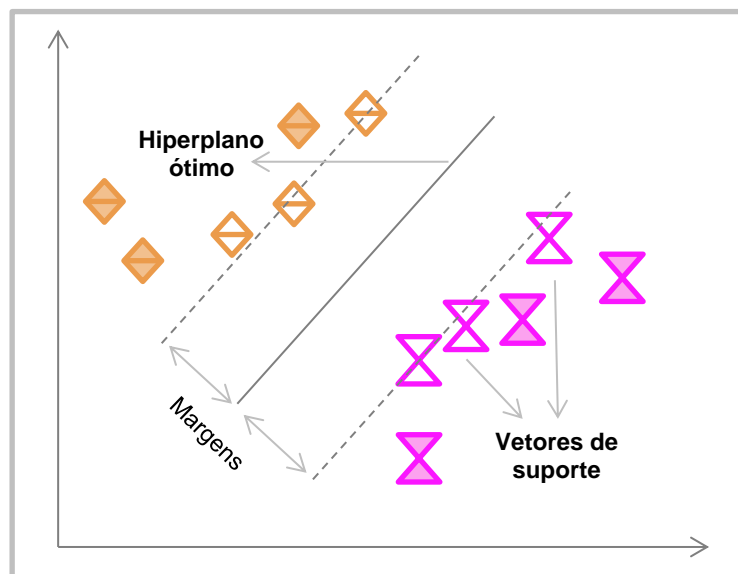
A SVM-DA consiste de um método de classificação binário, supervisionado, não linear e não paramétrico que tem como característica principal a flexibilidade ajustável. Esse modelo busca encontrar a maior margem para separar diferentes classes amostrais utilizando um algoritmo de aprendizado supervisionado a fim de construir um hiperplano ótimo (fronteira de decisão) (Figura 18). O algoritmo escolhe aquelas amostras de treinamento que se encontram precisamente na fronteira entre as duas classes como protótipos. Portanto, os vetores de suporte são encontrados durante a fase de treinamento, sendo considerados os modelos de treinamento realmente importantes para o modelo. Assim, os vetores de suporte são utilizados para definir qual será o hiperplano (Belousov, Verzakov e Von Frese, 2002; Rani e Athavale, 2015).

Cada instância no conjunto de treinamento contém um valor final (isto é, os rótulos de classes) e vários atributos associados com as variáveis observadas. O objetivo do SVM é produzir um modelo (com base nos dados de treino) que prevê os valores de destino dos dados de ensaio apresentados apenas os atributos de dados de teste (Rani e Athavale, 2015).

Comparações detalhadas de diversos classificadores de conjuntos de dados do mundo real têm mostrado que muitas vezes algoritmos de classificação muito simples, como linear, análise discriminante logística ou quadrática são capazes de superar as abordagens de classificação mais novas e muito elaboradas. Em princípio, as abordagens mais flexíveis também são capazes de implementar limites de

classificação simples como casos especiais, devendo, portanto, ser capaz de realizar, pelo menos, igualmente bem. Mas o erro de generalização  $\epsilon_N$  para um classificador treinado em um número limitado de  $N$  amostras geralmente excede o menor erro possível de generalização  $\epsilon_\infty$  com um conjunto de treinamento infinito (ou muito grande) (Belousov, Verzakov e Von Frese, 2002).

**Figura 18** Princípio da Máquina de vetores de suporte.



Fonte: Adaptado de Rani e Athavale (2015).

Além do número de amostras de formação, aumentar o erro  $\Delta\epsilon_N$  geralmente depende no número de dimensões dos dados de entrada, o classificador (e, eventualmente, os seus parâmetros de aprendizagem) e as distribuições das classes a ser classificado (Belousov, Verzakov e Von Frese, 2002).

Um classificador mais flexível precisa de mais exemplos de treinamento para determinar os seus parâmetros e, portanto, para alcançar a mesma baixa  $\Delta\epsilon_N$  como um classificador mais simples. Por outro lado, a sua flexibilidade permite a aprender limites de decisão mais complexos e, por conseguinte, chegar a um  $\epsilon_\infty$  inferior para as distribuições de dados complicados. Assim, a escolha do classificador ideal não deve apenas ser determinada pela complexidade das distribuições de classe, mas também pelo número disponível de amostras de treino (Belousov, Verzakov e Von Frese, 2002).

**4. CAPÍTULO 1: Cannabis sativa: A systematic  
review of plant analysis**





#### 4.1 Manuscrito 1

O Capítulo 1 é constituído por artigo científico a ser submetido, conforme referência abaixo, compreendido entre as páginas suprimidas 90 a 119. O conteúdo do artigo refere-se a uma revisão sistemática que inclui os artigos encontrados na literatura no período de 2010 a agosto de 2016, referentes às metodologias analíticas utilizadas para análise da planta canábica.







































































**5. CAPÍTULO 2: Near infrared spectroscopy  
combined with chemometrics for growth stage  
classification of Cannabis cultivated in a  
greenhouse from seized seeds**



## 5.1 Manuscrito 2

O Capítulo 2 é constituído por artigo científico publicado, conforme referência abaixo, , compreendido entre as páginas suprimidas 124 a 139. O artigo descreve o agrupamento por PCA e HCA, e a classificação por PLS-DA e SVM-DA de amostras de canábis em três períodos de crescimento distintos, através de análise de NIRS.







































**6. CAPÍTULO 3: Cannabis seizure in Brazil:  
cannabinoids- and terpenoids profile, fibre- or  
drug type**



## 6.1 Manuscrito 3

O Capítulo 3 é constituído por artigo científico em processo de preparação para submissão, conforme referência abaixo, compreendido entre as páginas suprimidas 143 a 165. O artigo descreve o perfil químico de canabinoides e terpenoides presente nas amostras de canábis através de análise por CG/EM e também classifica as amostras em tipo fibra ou tipo droga.





















































**7.CAPÍTULO 4: Chemical Profiling and  
Classification of Cannabis through Electrospray  
ionization coupled to Fourier Transform Ion  
Cyclotron Resonance Mass Spectrometry and  
Chemometrics**





## 7.1 Manuscrito 4

O Capítulo 4 é constituído por artigo científico submetido, conforme referência abaixo, compreendido entre as páginas suprimidas 170 a 201. O artigo descreve um perfil químico de canabinoides utilizando o espectrômetro de massas de altíssima resolução FT-ICR MS, que possibilitou a identificação de 123 canabinoides e metabólitos. Ainda, utilizando ferramentas quimiométricas a partir dos dados obtidos, foi possível obter uma tendência de agrupamento das amostras de canábis em 6 diferentes tempos de crescimento, além de uma adequada classificação por PLS-DA desses 6 grupos.



























.....















































## **8. DISCUSSÃO GERAL**



A canábis é a droga ilícita mais consumida mundialmente e isto envolve muitas questões como saúde, tráfico, ilegalidade, violência e recreação. Estudos têm demonstrado que alguns constituintes da planta apresentam propriedades medicinais, entretanto, os aspectos éticos e a relação custo e benefício relacionada ao uso de uma droga psicotrópica como medicamento é fundamental e devem ser avaliados com muita cautela, justificando a importância da realização de estudos científicos que envolvam maior conhecimento da planta, dos seus constituintes químicos, além dos efeitos que a utilização da planta e a utilização destes constituintes isoladamente podem gerar sobre o organismo humano. Muita cautela se faz necessário quando se trata do manejo de substâncias psicotrópicas, e requer um balizamento entre risco, benefício e assimilação cultural desta aplicação.

Dados da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2016) apontam que o consumo da planta é mais comum em países desenvolvidos, isto porque não se tem bons dados sobre a prevalência de uso da canábis em países em desenvolvimento. Índícios apontam um aumento na prevalência em casos de dependência de canábis entre 2001 e 2010 em todo o mundo, apresentando um conjunto de fenômenos comportamentais, cognitivos e fisiológicos que se desenvolvem em decorrência do uso repetitivo da planta. Há também um crescente e grande aumento na demanda por sistemas de tratamento de dependência para distúrbios devido ao uso da canábis em vários países de alta renda e em alguns países de média e baixa renda (UNODC, 2016; WHO, 2016).

Uma vez que a potência da canábis é determinada em % de  $\Delta^9$ -THC quantificada na planta, alguns testes toxicológicos podem apresentar limitações nas análises desta determinação devido às características químicas dos canabinoides. As altas temperaturas utilizadas tanto para injeção da amostra como para a separação dos compostos na CG podem levar à degradação do  $\Delta^9$ -THC por oxidação, formando o CBN, ou por isomerização, gerando o  $\Delta^8$ -THC. Uma vez que na CL não há utilização de temperaturas elevadas, nesta técnica é possível analisar os canabinoides neutros (ex.:  $\Delta^9$ -THC) presentes na planta e também os seus precursores ácidos (ex.: THCA). Assim, além do elevado número de diferentes canabinoides presentes na amostra, as semelhanças nas estruturas químicas destes compostos tornam necessárias análises mais demoradas para obter uma boa separação cromatográfica dos analitos. Por isso, em uma análise toxicológica de canábis, em que se objetiva quantificar um ou mais

canabinoides, determinar a potência da planta ou ainda, a razão  $\Delta^9$ -THC/CBD, uma gama de padrões analíticos é necessária, além da validação de métodos analíticos eficientes de diferenciação e um amplo conhecimento dos canabinoides por parte do toxicologista analista.

O conhecimento sobre o crescente aumento da potência da canábis apreendida nos Estados Unidos, em vários países da Europa, Nova Zelândia e Austrália (Mehmedic et al., 2010; Cascini, Aiello e Di Tanna, 2012; De Backer et al., 2012; Swift et al., 2013; UNODC, 2016; WHO, 2016) corrobora com os fatos anteriormente mencionados, uma vez que os problemas de saúde relacionados ao uso da planta estão diretamente relacionados com a sua potência. Até o momento não há informações sobre a potência da canábis relacionadas às apreensões feitas na América do Sul, muito menos no Brasil, embora o Brasil tenha realizado operações para erradicação da planta no Paraguai e no nordeste brasileiro em 2013, apreendendo cerca de 222 toneladas de canábis em território nacional (UNODC, 2015).

Embora haja um crescente aumento nas toneladas de apreensões de canábis realizadas no Brasil, a remessa de sementes de canábis em pequenas quantidades através de empresas de transporte parece ser uma nova forma de tráfico internacional de drogas. No entanto, até a realização deste trabalho havia completa falta de conhecimento do perfil químico, da potência e da razão  $\Delta^9$ -THC/CBD na droga que é utilizada ilegalmente no país. Por isso, para produzir as informações contidas neste estudo a respeito da canábis presente atualmente no Brasil, foram utilizadas sementes de canábis apreendidas pela PF no estado do Rio Grande do Sul.

Além do perfil químico, outro objeto de interesse ao analisar um determinado grupo de amostras de apreensão trata-se da obtenção de padrões de agrupamento e de classificação das amostras. A análise e a correta interpretação de padrões específicos, no âmbito da toxicologia forense, além de auxiliar na caracterização de um determinado grupo amostral, podem fornecer elementos para que sejam traçadas rotas de tráfico, criar vínculos específicos entre fornecedores e usuários, padrões de distribuição de drogas, e a origem das amostras. Assim, ferramentas quimiométricas compreendem um conjunto de análises computacionais que envolvem matemática e estatística que podem ser aplicadas em dados químicos. Para que seja investigado um padrão de agrupamento ou classificação, primeiramente deve-se determinar um

ou mais fatores determinantes para gerar tal padrão. A elevada variabilidade intrínseca (sementes com diferentes marcas, variedades, quimiotipos e gêneros) do grupo amostral em estudo levou à escolha de uma variável que estivesse passível de ser controlada durante o estudo: o “período de crescimento” das amostras. As informações obtidas pela análise de reconhecimento de padrões através da variável escolhida, podem reunir informações sobre período de cultivo da planta e a partir destas, estabelecer uma ligação entre o local de cultivo, as sementes traficadas e rotas de tráfico.

Em um primeiro passo, o plantio das sementes de canábis foi realizado sob condições controladas, em uma estufa artesanal montada no laboratório do Setor Técnico Científico da Superintendência de Polícia Federal no Rio Grande do Sul. As amostras em questão, foram plantadas para realizar a comprovação da presença de  $\Delta^9$ -THC e outros canabinoides nas amostras a fim de efetivar a prova pericial pelos peritos federais. Simultaneamente as amostras foram utilizadas nesta pesquisa. Sendo assim, os “períodos de crescimento” foram determinados em parte pelos pesquisadores do estudo, porém, uma vez que essas amostras faziam parte de apreensões realizadas pela PF, havia também a necessidade do cumprimento de prazos dos laudos periciais. Devido à dificuldade e demora no processo de aquisição de padrões analíticos de substâncias proscritas no país, não foi possível determinar a potência da droga neste trabalho. No entanto, as três diferentes técnicas analíticas utilizadas permitiram a obtenção de informações relacionadas ao perfil químico da canábis sob diferentes aspectos.

A EM é uma técnica com desempenho analítico que apresenta como vantagens importantes os limites de detecção muito baixos e a identificação das substâncias presentes na amostra. Porém, rotineiramente a EM exige o preparo prévio das amostras para análise, como a utilização de uma técnica adicional para a ionização dos compostos a serem analisados. Além disso, há um maior custo de análise e da manutenção dos equipamentos, necessidade de treinamento de pessoal técnico qualificado para realização das análises, a destruição das amostras durante as análises e a imposição da amostra ser analisada em um laboratório fixo. O FT-ICR MS atualmente é considerado o equipamento com maior poder de resolução e exatidão de massa fornecendo a identificação inequívoca dos compostos presentes

até mesmo em amostras mais complexas. Entretanto, apresenta elevado custo de análise e manutenção mais complexa.

Em análises realizadas por FT-ICR MS as amostras são injetadas diretamente no analisador de massas, sem que ocorra a prévia separação dos compostos. Em se tratando dos canabinoides, essa técnica possibilitou a identificação de uma ampla gama de compostos da classe. No entanto, um limitante da técnica para a análise de canabinoides é o fato deste grupo de compostos apresentar muitos isômeros, o que leva a atribuição de mais de um canabinoide para um determinado sinal. Sendo assim, os dados obtidos por FT-ICR MS, apresentaram uma boa, porém não totalmente correta, classificação e uma tendência de formação de grupos nos diferentes tempos de crescimento da canábis.

A técnica de CG, que tem como princípio básico a separação de compostos voláteis, acoplada a um EM, possibilitou a identificação de alguns canabinoides e terpenoides presentes nas amostras, mesmo que sem a disponibilidade de padrões analíticos. No entanto, os dados obtidos por esta técnica não foram suficientemente robustos para suportar a utilização de ferramentas quimiométricas que obtivesse uma adequada interpretação dos diferentes tempos de crescimento da canábis. Uma justificativa para a não obtenção dos padrões de crescimento é a ausência e/ou presença de um mesmo composto em determinadas amostras, que fazem parte de um mesmo grupo de tempo de crescimento. Alguns fatores que podem ter levado ao quadro apresentado acima podem ser devido à utilização de metodologia parcialmente validada, devido a falta de padrões analíticos quantitativos, ou a necessidade de um grupo amostral muito maior do que o estudado, para que a variabilidade intrínseca das amostras não seja mais significativa do que a variabilidade dos compostos nos diferentes tempos de crescimento.

No Brasil, não há distinção legal das amostras de canábis em tipo fibra ou tipo droga, como ocorre em vários países do mundo, uma vez que a Portaria nº 344/98 enquadrava até pouco tempo como substância proscrita o  $\Delta^9$ -THC juntamente com seus isômeros e suas variantes estereoquímicas. No entanto, desde 2015 um dos canabinoides presentes na canábis, o CBD, saiu da lista de substâncias proscritas e atualmente faz parte da lista de substâncias sujeitas a controle especial. Com base nesta nova determinação legal, é possível que a restrição ao quimiotipo com alto teor de CBD possa ser revisto e que a diferenciação entre plantas do tipo droga ou tipo



fibra torne-se um novo quesito exigido aos laboratórios forenses. As análises realizadas por CG/EM possibilitaram a diferenciação da canábis em tipo fibra ou tipo droga, uma vez que essa determinação pode ser realizada calculando a área do pico no cromatograma do  $\Delta^9$ -THC, somada à área do pico no cromatograma do seu produto de degradação CBN, quando este estiver presente, dividida pela área do pico do cromatograma do CBD. Além disso, uma outra justificativa de extrema importância para se avaliar a proporção de  $\Delta^9$ -THC e CBD nas amostras de canábis é em virtude dos efeitos relacionados ao uso da canábis estarem relacionados, principalmente, na razão destes dois canabinoides, uma vez que os efeitos do  $\Delta^9$ -THC são modulados pelo CBD. A eficiência de separação oferecida pela CG, acoplada à identificação dos compostos utilizando EM, também possibilitou que fosse avaliada e realizada uma caracterização de um perfil químico de canabinoides e terpenoides presentes nas amostras de canábis. Ressalta-se ainda a importância das análises realizadas em CG/MS por ser esta a metodologia analítica disponível em todas as unidades de perícia da PF.

Cada vez mais tem sido discutido sobre a importância das tecnologias modernas em investigações forenses, uma vez que com desenvolvimento de novas tecnologias estão surgindo também novas possibilidades para realização de análises robustas e *in loco*, utilizando equipamentos portáteis, sem a necessidade de utilizar um ambiente controlado como o laboratório além de fornecer o resultado de uma análise em tempo real. Os benefícios das análises *in loco* e em tempo real nas investigações forenses são inúmeros. Por exemplo, uma vez que a qualidade das análises *in loco* seja garantida em todos os momentos, esses resultados podem ser utilizados como provas no tribunal, aumentando a velocidade e eficácia do sistema de justiça criminal. Como exemplo disso a NIRS trata-se de uma técnica analítica de rápida realização, praticamente sem necessidade de preparo da amostra e que pode ser amplamente utilizada para analisar amostras que apresentem grupos funcionais orgânicos.

Face ao exposto, a terceira técnica utilizada para analisar as amostras de canábis foi a NIRS. Esta técnica, diferentemente das duas anteriores, não possibilita a identificação de compostos em amostras mais complexas, como a canábis, uma vez que o seu princípio é a obtenção de espectros das interações das radiações eletromagnéticas com moléculas ou partículas. Devido à necessidade da utilização de

ferramentas quimiométricas na interpretação visual dos espectros de infravermelho próximo, antes da utilização rotineira da NIRS modelos estatísticos devem ser previamente construídos possibilitando realizar a classificação das amostras matematicamente a partir dos dados químicos obtidos.

Outro fator importante da técnica NIRS é a análise não destrutiva da amostra e não invasiva, apresentando-se eficiente e viável em análises forenses. Por uma questão de principio científico, ético e legal, em se tratando de análises forenses, há a necessidade por parte dos peritos de realizarem análise das amostras por eles trabalhadas por mais de uma técnica analítica, com diferentes princípios de análise. A quimiometria acaba se tornando uma ferramenta quase que obrigatória para interpretação de dados obtidos por NIRS. Embora os espectros obtidos através das análises das amostras de canábis tenham apresentado informações bem generalizadas sobre as amostras, quando aplicada a quimiometria no banco de dados gerado, foi possível obter um agrupamento eficaz, além da classificação 100% correta para todos os grupos de tempo de crescimento analisados.

Como possíveis aplicações do trabalho desenvolvido podem ser citadas:

- 1 Aplicações do estudo do perfil químico da canábis por CG/EM:
  - 1.1 Distinguir as amostras de canábis em tipo fibra ou tipo droga;
  - 1.2 Determinar a razão de  $\Delta^9$ -THC/CBD presente na canábis;
  - 1.3 Caracterizar o perfil químico de canabinoides presente na canábis;
  - 1.4 Caracterizar o perfil químico de terpenoides presente na canábis;
  - 1.5 Criar banco de dados de amostras de diferentes apreensões.
- 2 Aplicações do estudo do perfil químico da canábis por FT-ICR MS:
  - 2.1 Identificação de uma ampla gama de canabinoides não obtida em outras técnicas analíticas com altíssimo poder de resolução e exatidão;
  - 2.2 Criar banco de dados de amostras de diferentes apreensões.
- 3 Aplicações do estudo do perfil químico da canábis por NIRS:
  - 3.1 Desenvolvimento de um modelo de agrupamento de amostras de canábis por PCA, conforme seus diferentes períodos de crescimento;
  - 3.2 Desenvolvimento de um modelo de classificação de amostras de canábis por SVM-DA, conforme seus diferentes períodos de crescimento;
  - 3.3 Utilização de NIRS portátil, instrumento que permite analisar amostras de canábis *in loco*.

- 3.4 Criar banco de dados de amostras de diferentes apreensões.
4. Obtenção de dados químicos sobre as amostras de canábis apreendidas no país, desconhecidos até o momento.
5. Gerar dados que possam vir a servir como subsídio para:
- 5.1 A polícia brasileira: no desenvolvimento de novas técnicas que possibilitam obter padrões de classificação das amostras apreendidas;
  - 5.2 Profissionais da saúde: como banco de dados informativo sobre os constituintes químicos presentes nas amostras dessa droga, aos quais os usuários estão expostos quando fazem uso da canábis;
  - 5.3 Comunidade científica: na divulgação dos dados sobre amostras de canábis apreendidas no Brasil, uma vez que não existiam essas informações até o momento;
  - 5.4 Órgãos governamentais e políticos do país: no fornecimento de dados sobre amostras de canábis apreendidas no Brasil, uma vez que atualmente ocorrem inúmeras discussões a respeito da legalização, ou não legalização da droga no país.
  - 5.5 População em geral: apresentando dados reais sobre as amostras de canábis apreendidas no Brasil que possibilitem melhor entendimento sobre as causas e consequências da utilização desta droga.

Desta forma, os dados gerados com o desenvolvimento deste estudo possibilitaram a identificação e o conhecimento do perfil químico das amostras de canábis apreendidas no estado do Rio Grande do Sul. Salienta-se a importância deste estudo especialmente para o nosso grupo de pesquisa do Laboratório de Toxicologia (LABTOXICO), contribuindo para o seguimento e a ampliação de uma linha de pesquisa sobre amostras de apreensões, métodos de detecção e identificação, métodos de agrupamento e classificação de amostras e análises químicas em amostras brutas com finalidade forense (Mariotti et al., 2014; Ortiz et al, 2014).



## **9. CONCLUSÕES**



O plantio de sementes de canábis apreendidas pela PF no estado do Rio Grande do Sul permitiu a realização de um estudo inédito de perfil químico destas amostras, uma vez que não havia dados referentes a esse tipo de droga encontrada no Brasil publicados anteriormente. As diferentes metodologias de análise química (NIRS, FT-ICR MS e CG/EM) aplicadas neste trabalho permitiram a análise de amostras de canábis que forneceram dados sob diferentes aspectos, todos eles fornecendo informações relevantes em toxicologia.

O método utilizado por CG/EM permitiu a obtenção do perfil dos canabinoides e terpenoides presente nas amostras de canábis, distinguir as amostras em tipo fibra ou tipo droga ou determinar a proporção de  $\Delta^9$ -THC/CBD. O método utilizado por NIRS, PCA e HCA permitiu agrupar as amostras de canábis conforme o seu período de crescimento e o método utilizado por NIRS, PLS-DA e SVM-DA permitiu classificar as amostras de canábis conforme o seu período de crescimento. O método utilizado por FT-ICR MS possibilitou a obtenção da metabolômica da planta.

Visto as lacunas nos estudos sobre drogas brutas, em conjunto com o aumento no volume de apreensões de sementes de canábis no Brasil, a banalização e o aumento progressivo no número de usuários de canábis que vem ocorrendo no país além das discussões em torno da legalização ou não da droga no país, esse estudo trouxe como resultado fundamental dados inéditos relativos às amostras de canábis utilizadas de forma ilícita no país. Essas informações foram obtidas a partir das análises químicas realizadas, em conjunto com o estudo e a interpretação do banco de dados gerado através dos constituintes químicos presentes nas amostras de canábis que foram apreendidas no estado do Rio Grande do Sul. Tudo isso foi realizado através da revisão e compilação de dados da literatura bem como de desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos e quimiométricos eficientes.





## **11. REFERÊNCIAS**



AIZPURUA-OLAIZOLA, O. et alii. Identification and quantification of cannabinoids in *Cannabis sativa* L. plants by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Leioa, v. 406, p. 7549-7560, 2014.

ALAERTS, G. et alii. Exploration and classification of chromatographic fingerprints as an additional tool for identification and quality control of several *Artemisia* species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 95, p. 34-46, 2014.

ALVES, A. O. et alii. Synthetic cannabinoids: emerging drugs of abuse. *Archives of Clinical Psychiatry*, v. 39, n. 4, p. 142-8, 2012.

AMADUCCI, S. et alii. Key cultivation techniques for hemp in Europe and China. *Industrial Crops and Products*, v. 68, p. 2-16, jul. 2015.

ANZANELLO, M. J. et alii. Multicriteria wavenumber selection in cocaine classification. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 115, p. 562-569, 2015.

BALBINO, M. A. *Estudo do comportamento eletroquímico do  $\Delta^9$ -tetraidrocannabinol derivatizado com Fast Blue B*. 2014. Tese (Doutorado em Química) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

BALLY, N. et alii. Cannabis use and first manic episode. *Journal of Affective Disorders*, v. 165, p. 103-108, 2014.

BANERJEE, S. et alii. Electrospray Ionization mass spectrometry: A technique to access the information beyond the molecular weight of the analyte. *International Journal of Analytical Chemistry*, v. 2012, p. 1-40, 2012.

BARANN, M. et alii. Direct inhibition by cannabinoids of human 5-HT<sub>3A</sub> receptors: probable involvement of an allosteric modulatory site. *British Journal of Pharmacology*, v. 137, p. 589-596, 2002.

BAUR, R. et alii. The cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor antagonists rimonabant (SR141716) and AM251 directly potentiate GABA<sub>A</sub> receptors. *British Journal of Pharmacology*, v. 165 p. 2479–2484, 2012.

BELL, C. et alii. Butane hash oil burns associated with marijuana liberalization in Colorado. *Journal of Medical Toxicology*, v. 11, p. 422-425, 2015.

BELOUSOV, A. I. et alii. A flexible classification approach with optimal generalisation

performance: support vector machines. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, Münster, v. 64, p. 15-25, mai. 2002.

BONATO, P. S. *in*: COLLINS, C. et alii. *Fundamentos de Cromatografia*. 1. ed. Editora da Unicamp: Campinas, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n.º 344, de 12 de Maio de 1998 - Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 1998.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n.º 63, de 17 de Outubro de 2014 - Dispõe sobre a atualização do Anexo I, Lista de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas Precursoras e Outras sob Controle Especial da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998 e dá outras providências. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n.º 03, de 17 de Janeiro de 2015 - Dispõe sobre a atualização do Anexo I, Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998 e dá outras providências. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 2015a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n.º 17, de 06 de Maio de 2015 - Define os critérios e os procedimentos para a importação, em caráter de excepcionalidade, de produto à base de Canabidiol em associação com outros canabinoides, por pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 2015b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n.º 66, de 18 de Março de 2016 - Dispõe sobre a atualização do Anexo I (Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial) da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998, e dá outras providências. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 2016.

BROSÉUS, J. et alii. Multi-class differentiation of cannabis seedlings in a forensic context. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 107, p. 343–350, 2011.

CARLINI, E. A. The history of marihuana in Brazil. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, v. 55, n. 4, p. 314-317, 2006.

CASCINI, F. et alii. Increasing Delta-9-Tetrahydrocannabinol ( $\Delta$ -9-THC) Content in Herbal Cannabis Over Time: Systematic Review and Meta-Analysis. *Current Drug Abuse Reviews*, v. 5, p. 32-40, 2012.

CONSOLE-BRAM, L. et alii. Cannabinoid Receptors: Nomenclature and Pharmacological Principles. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 38, n. 1, p. 4-15, 2012.

CORREIA, P. R. M. et alii. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. *Química Nova*, p. 30, n. 2, p. 481-487, 2007.

DANIULAITYTE, R. et alii. "Time for dabs": Analyzing Twitter data on marijuana concentrates across the U.S. *Drug and Alcohol Dependence*, v. 155, p. 307-311, 2015.

DE BACKER, B. et alii. Evolution of the Content of THC and Other Major Cannabinoids in Drug-Type Cannabis Cuttings and Seedlings During Growth of Plants. *Journal of Forensic Sciences*, v. 57, n. 4, p. 918-922, 2012.

DECICINO, R. *Fronteiras brasileiras: Os limites do nosso território*. Disponível em: <<http://educacao.uol.com.br/disciplinas/geografia/fronteiras-brasileiras-os-limites-do-nosso-territorio.htm>>. Acesso em: 27 out. 2016.

DEILY NEWS. *Uruguay marijuana sales delayed until 2015: president*. Disponível em: <<http://www.hurriyetaidailynews.com/uruguay-marijuana-sales-delayed-until-2015-president.aspx?pageID=238&nID=68922&NewsCatID=358>>. Acesso em: 27 out. 2016.

DE MAESSCHALCK et alii. Decision criteria for soft independent modelling of class analogy applied to near infrared data. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 47, p. 65-77, 1999.

DE MEIJER, E. P. M. et alii. The Inheritance of Chemical Phenotype in *Cannabis sativa* L. *Genetics*, v. 163, p. 335-346, jan. 2003.

DE MUÑIZ, G. I. B. et alii. Fundamentos e estado da arte da espectroscopia no infravermelho próximo no setor de base florestal. *Ciência Florestal*, v. 22, n. 4, p. 865-875, out.-dez, 2012.

DENG, J. et alii. Chemical fingerprint analysis for quality assessment and control of Bansha herbal tea using paper spray mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, v. 785, p. 82-90, 2013.

DEVANE, W. A. et alii. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*, v. 258, p. 1946-1949, 1992.

DI MARZO, V. et alii. Why do cannabinoid receptors have more than one endogenous ligand? *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, v. 367, p. 3216-3228, 2012.

DI MARZO, V. et alii. The Endocannabinoid System and its Modulation by Phytocannabinoids. *Neurotherapeutics*, v. 12, p. 692-698, 2015.

DOLE, M. L. L. et alii. Molecular beams of Macroions. *Journal of Chemical Physics*, v. 49, n. 5, p. 2240-2249, 1968.

ELSOHLY, M. A. et alii. Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sciences*, v. 78, p. 539-548, 2005.

ELSOHLY, M. A. (Ed). *Marijuana and the Cannabinoids*. Totowa: Humana Press Inc., 2007.

ELSOHLY, M. A; et alii. Synthetic cannabinoids: Analysis and metabolites. *Life Sciences*, v. 97, p. 78-90, 2014.

ERKELENS, J. L. et alii. That which we call *Indica*, by any other name would smell as sweet. *Cannabinoids*, v. 9, n. 1, p. 9-15, 2014.

FARRÉS, M. et alii. Comparison of the variable importance in projection (VIP) and of the selectivity ratio (SR) methods for variable selection and interpretation. *Journal of Chemometrics*, Barcelona, v. 29, p. 528-536, jul. 2015.

FELLERMEIER, M. et alii. Prenylation of olivetolate by a hemp transferase yields cannabigerolic acid, the precursor of tetrahydrocannabinol. *FEBS Letters*, v. 427, p. 283-285, 1998.

FERREIRA, M. M. C. *Quimiometria: Conceitos, Métodos e Aplicações*. 1. ed. Editora da Unicamp: Campinas, 2015.

FISCHEDICK, J. T. et alii. Metabolic fingerprinting of *Cannabis sativa* L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes. *Phytochemistry*, v. 71, p. 2058-2073, 2010.

GAGNE, S. J. et alii. Identification of olivetolic acid cyclase from *Cannabis sativa* reveals a unique catalytic route to plant polyketides. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 109, n. 31, p. 12811-12816, jul. 2012.

GALEA, C. et alii. Method development for impurity profiling in SFC: The selection of adissimilar set of stationary phases. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 111, p. 333-343, 2015.

GAONI, Y. et alii. Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *Journal of the American Chemical Society*, v. 86, p. 1646-1647, apr. 1964.

GLOSS, D. An Overview of Products and Bias in Research. *Neurotherapeutics*, v. 12, p. 731-734, 2015.

GUNDERSON, E. W. et alii. A Survey of Synthetic Cannabinoid Consumption by Current Cannabis Users. *Substance Abuse*, v. 35, n. 2, p. 184-189, 2014.

HALKET, J. M. et al. Chemical derivatization and mass spectral libraries in metabolic profiling by GC/MS and LC/MS/MS. *Journal of Experimental Botany*, v. 56, n. 410, p. 219-243, 2005.

HAMNER, K. C. et alii. Photoperiodismin Relatiant O Hormones As Factors In Floral Initiation And Development. *Botanical Gazette*, v. 100, n. 2, p. 388-431, 1938.

HAPPYANA, N. et alii. Analysis of cannabinoids in laser-microdissected trichomes of medicinal *Cannabis sativa* using LCMS and cryogenic NMR. *Phytochemistry*, v. 87, p. 51-59, 2013.

HAZEKAMP, A. et al. Evaluation of a Vaporizing Device (Volcano®) for the Pulmonary Administration of Tetrahydrocannabinol. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 95, n. 6, p. 1308-1317, jun. 2006.

HAZEKAMP, A. *Cannabis; extracting the medicine*. Thesis (Doctorate Degree). Universiteit Leiden, 2007.

HAZEKAMP, A. et alii. The prevalence and incidence of medicinal cannabis on prescription in The Netherlands. *European Journal of Clinical Pharmacology*, v. 69, p. 1575-1580, 2013.

HILL, A. J. et alii. Phytocannabinoids as novel therapeutic agents in CNS disorders. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 133, p. 79-97, 2012.

HILL, M. Be clear about the real risks. *Nature*, v. 525, p. 14, set. 2015.

HILLIG, K. W. A chemotaxonomic analysis of terpenoid variation in *Cannabis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 32, p. 875-891, 2004.

HILLIG, K. W. et alii. A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in cannabis (cannabaceae). *American Journal of Botany*, v. 91, n. 6, p. 966-975, 2004.

HOFFMANN, E. et alii. *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. 3 ed. John Wiley & Sons Inc, London, 2007.

HUESTIS, M. A. Human Cannabinoid Pharmacokinetics. *Chemistry Biodiversity*, v. 4, n. 8, p. 1770-1804, aug. 2007.

IMDb. *Internet Movie Database*. Disponível em: <[http://www.imdb.com/title/tt00283-46/?ref\\_=nv\\_sr\\_2](http://www.imdb.com/title/tt00283-46/?ref_=nv_sr_2)>. Acesso em: 17 jan. 2016.

KHAJEHALI, E. et alii. Biased agonism and biased allosteric modulation at the cb1 cannabinoid receptor. *Molecular Pharmacology*, v. 88, n. 2, p. 368-379, aug. 2015.

KHAN, M. et alii. Catatonia Secondary to Synthetic Cannabinoid Use in Two Patients With No Previous Psychosis. *The American Journal on Addictions*, v. 25, p. 25-27, 2016.

KITSON, F. G. et alii. *Gas Chromatography- Mass Spectrometry: a practical guide*. Academic Press: San Diego, 1996.

KONG, W.-J. et alii. Quantitative and chemical fingerprint analysis for quality control of *Rhizoma Coptidis chinensis* based on UPLC-PAD combined with chemometrics methods. *Phytomedicine*, v. 16, p. 950-959, 2009.

KUJAWINSKI, E. B. Electrospray ionization Fourier Transform ion cyclotron resonance mass spectroscopy (ESI FT-ICR MS): Characterization of complex environmental mixtures. *Environmental Forensics*, v. 3, p. 207-216, 2002.

LIMA, A. et alii. Espectroscopia no infravermelho próximo para a monitorização da perfusão tecidual. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, v. 23, n. 3, p. 341-351, 2011.

LISDAHL, K.M. et alii. Considering Cannabis: The Effects of Regular Cannabis Use on Neurocognition in Adolescents and Young Adults. *Current addiction reports*, v. 1, n. 1, p. 44-156, 2014.



LOFLIN, M et alii. A new method of cannabis ingestion: The dangers of dabs? *Addictive Behaviors*, v. 39, p. 1430-1433, 2014.

MARCELO, C. A. M. et alii. Profiling cocaine by ATR-FTIR. *Forensic Science International*, v. 246, p. 65–71, 2015.

MARIOTTI, K. C. *Estimulantes tipo-anfetamínicos: uma abordagem no trânsito, analítica e forense*. 2013. 120 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MARSHALL, A. G. et alii. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: Technique developments. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, p. 37-70, v. 118-119, set. 1992.

McPARTLAND, J. et alii. Care and Feeding of the Endocannabinoid System: A Systematic Review of Potential Clinical Interventions that Upregulate the Endocannabinoid System. *PLoS One*, v. 9, n. 3, p. 1-21, mar. 2014.

McPARTLAND, J. M. et alii. Are cannabidiol and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarin negative modulators of the endocannabinoid system? A systematic review. *British Journal of Pharmacology*, v. 172, p. 737-753, 2015.

MECHOLAUM, R. et alii. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochemical Pharmacology*, v. 50. n. 1, p. 83-90, 1995.

MECHOLAUM, R. et alii. Early phytocannabinoid chemistry to endocannabinoids and beyond. *Nature Reviews*, v. 15, p. 757-764, nov. 2014.

MEHMEDIC, Z. et alii. Potency Trends of  $\Delta^9$ -THC and Other Cannabinoids in Confiscated Cannabis Preparations from 1993 to 2008. *Journal of Forensic Sciences*, v. 55, n. 5, p. 1209-1217, 2010.

MONACO, L. C. et alii. Efeito De Dias Longos No Crescimento E Florescimento De Cultivares De Café. *Bragantia*, v. 37, n. 4, p. 25–32, 1978.

MORGANO, Marcelo Antônio; DE QUEIROZ, Sônia Cláudia do N.; FERREIRA, Márcia Miguel Castro. Aplicação da Análise Exploratória na Diferenciação de Vegetais. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 2, p. 73-79, 1999.

NIDA. *National Institute on Drug Abuse*. Disponível em: <<http://www.drugabuse.gov/publications/drugfacts/marijuana#mjextracts>>. Acesso em: 02 fev. 2016.

NIKOLAEV, E. N. et alii. Fourier transform ion cyclotron resonance (ft ict) mass spectrometry: theory and simulations. *Mass Spectrometry Reviews*, v.35, n. 2, p. 219-259, 2016.

ONOFRI, C. et alii. Sequence heterogeneity of cannabidiolic- and tetrahydrocannabinolic acid-synthase in *Cannabis sativa* L. and its relationship with chemical phenotype. *Phytochemistry*, v. 116, p. 57-68, 2015.

ORTIZ, R. S. *Perfil químico e tecnológico de medicamentos falsificados: uma abordagem estatística multivariada para os casos do Viagra e do Cialis*. 2014. 90 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

OUSSAMA, A., et alii. Detection of olive oil adulteration using ft-ir spectroscopy and pls with variable importance of projection (vip) scores. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 89, p. 1807–1812, 2012.

PAIN, S. A potted history. *Nature*, v. 525, p. 10-11, set. 2015.

PAMPLONA, F. A. Cannabis-based medicine: what is it good for? *Revista da Biologia*, v. 13, n. 1, p. 28-35, 2014.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 14, n. 2, 198-219, 2003.

PERTWEE, R. G. et alii. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid Receptors and Their Ligands: Beyond CB1 and CB2. *Pharmacological Reviews*, v. 62, p. 588-631, 2010.

PESCHEL, W. et alii. <sup>1</sup>H NMR and HPLC/DAD for *Cannabis sativa* L. chemotype distinction, extract profiling and specification. *Talanta*, v. 140, p. 150-165, 2015.

POLÍCIA FEDERAL. *PF bate recorde de apreensão de drogas em 2013*. Disponível em: <<http://www.dpf.gov.br/agencia/noticias/2014/01/pf-bate-recorde-de-apreensao-de-drogas-em-2013>>. Acesso em: 17 mar. 2016.

POLÍCIA FEDERAL. *Banco de fotos da Polícia Federal*, 2014.

POTTER, D. J. A review of the cultivation and processing of cannabis (*Cannabis sativa* L.) for production of prescription medicines in the UK. *Drug Testing and Analysis*, v. 6, p. 31-38, sep. 2014.

RABER, J. C. et alii. Understanding dabs: contamination concerns of cannabis concentrates and cannabinoid transfer during the act of dabbing. *The Journal of Toxicological Sciences*, v. 40, n. 6, p. 797-803, 2015.

RADWAN, M. M. et alii. Isolation and Pharmacological Evaluation of Minor Cannabinoids from High-Potency *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, v. 78, p. 1271-1276, 2015.

RADHAKRISHNAN, R. et alii. Gone to pot – a review of the association between cannabis and psychosis. *Frontiers in Psychiatry*, v. 5, p. 1-24, 2014.

RANI, S. et alii. Support Vector Machine for Multiclass Handwritten Digits. *International Journal of Advanced Research in Computer Science and Software Engineering*, [S.l.], v. 5, n. 6, p. 1322-1325, jun. 2015.

RINALDI-CARMONA, M. et alii. SR1417 16A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Letters*, v. 350, p. 240-244, 1994.

RINALDI-CARMONA, M. et al. SR 144528, the First Potent and Selective Antagonist of the CB2 Cannabinoid Receptor. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 284, p. 644-650, 1998.

ROCK, E. M. et al. Evaluation of the potential of the phytocannabinoids, cannabidivarin (CBDV) and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarin (THCV), to produce CB1 receptor inverse agonism symptoms of nausea in rats. *British Journal of Pharmacology*, v. 170, p. 671-678, 2013.

ROMANO, L. L. et alii. Cannabis Oil: chemical evaluation of an upcoming cannabis-based medicine. *Cannabinoids*, v. 1, n. 1, p. 1-11, 2013.

ROMÃO, W. *Novas aplicações da espectrometria de massas em química forense*. 2010. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

RUSSO, E. B. Cannabinoids in the management of difficult to treat pain. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, v. 4, n. 1, p. 245-259, 2008.

RUSSO, E. B. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*, v. 163, n. 7, p. 1344-1364, 2011.

SALENTIJN, E. M. J. et alii. New developments in fiber hemp (*Cannabis sativa* L.) breeding. *Industrial Crops and Products*, v. 68, p. 32–41, 2015.

SMALL, E. et alii. A Practical and Natural Taxonomy for Cannabis. *Taxon*, v. 25, n. 4, p. 405-435, aug. 1976.

SMALL, E. et alii. Hemp: *A New Crop with New Uses for North America. Trends in New Crops and New Uses*, JANICK, Jules; WHIPKEY, Anna (eds.). Alexandria: ASHS Press, 2002.

SMALL, E. Evolution and Classification of *Cannabis sativa* (Marijuana, Hemp) in Relation to Human Utilization. *Botanical Review*, v. 81, p. 189-294, 2015.

SMALL, E. et alii. Size matters: evolution of large drug-secreting resin glands in elite pharmaceutical strains of *Cannabis sativa* (marijuana). *Genetic Resources and Crop Evolution*, v. 63, p. 349-359, 2016.

SAWLER, J. et alii. The Genetic Structure of Marijuana and Hemp. *PLoS One*, v. 10, n. 8, p. 1-9, aug. 2015.

SPEED, H. E. Increased Cortical Inhibition in Autism-Linked Neuroligin-3R451C Mice Is Due in Part to Loss of Endocannabinoid Signaling. *PLoS One*, v. 15, n. 10, p. 1-16, oct. 2015.

SWIFT, W. et alii. Analysis of Cannabis Seizures in NSW, Australia: Cannabis Potency and Cannabinoid Profile. *PLoS One*, v. 8, n. 7, p. 1-9, 2013.

TANG, D. et al. Simultaneous chemical fingerprint and quantitative analysis of *Ginkgo biloba* extract by HPLC–DAD. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 396, p. 3087-3095, 2010.

TODESCHINI, B. H. *Perito da Superintendência Regional da Polícia Federal do Rio Grande do Sul*, 2012. [Comunicação pessoal].

TROFIN, I. G. et al. Identification and characterization of special types of herbal cannabis. *UPB Scientific Bulletin*, v. 74, n. 1, p. 119-130, 2012.

UCHIYAMA, N. et al. Chemical analysis of synthetic cannabinoids as designer drugs in herbal products. *Forensic Science International*, v. 198, p. 31-38, 2010.

UMCDDA. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. *European Drug Report - Trends and Developments 2015*. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2015.

UNODC. United Nations Office on Drugs and Crime. *Recommended Methods for the Identification and Analysis of Cannabis and Cannabis Products. MANUAL FOR USE BY NATIONAL DRUG ANALYSIS LABORATORIES*. Nova York: United Nations Publication, Sales No. E.09.XI.15, 2009.

UNODC. United Nations Office on Drugs and Crime. *World Drug Report 2014*. Nova York: United Nations Publication, Sales No. E.14.XI.7, 2014.

UNODC. United Nations Office on Drugs and Crime. *World Drug Report 2015*. Nova York: United Nations Publication, Sales No. E.15.XI.7, 2015.

UNODC. United Nations Office on Drugs and Crime. *World Drug Report 2016*. Nova York: United Nations Publication, Sales No. E.16.XI.7, 2016.

USDA. United States Department of Agriculture. *Natura Resources Conservation Service*. Disponível em: <<http://plants.usda.gov/classification.html>>. Acesso em: 26 jan. 2016.

VAN BAKEL, H. et al. The draft genome and transcriptome of *Cannabis sativa*. *Genome Biology*, v. 12, n. 102, p. 2-17, 2011.

WEIBLEN, G. D. et al. Gene duplication and divergence affecting drug content in *Cannabis sativa*. *New Phytologist*, v. 208 p. 1241-1250, 2015.

WIKIPEDIA. *Legality of cannabis by country*. Disponível em: <[https://en.m.wikipedia.org/wiki/Legality\\_of\\_cannabis\\_by\\_country](https://en.m.wikipedia.org/wiki/Legality_of_cannabis_by_country)>. Acesso em: 11 set. 2016.

WHO. World Health Organization. *The health and social effects of nonmedical cannabis use*. WHO Press: Genebra, 2016.

ZACCA, J. J. et al. Correlation of Cocaine Hydrochloride Samples Seized in Brazil Based on Determination of Residual Solvents: An Innovative Chemometric Method for Determination of Linkage Thresholds. *Analytical Chemistry*, v. 85, p. 2457-2464, 2013.

ZHANG, J.-I. et alii. Chemical fingerprint and metabolic fingerprint analysis of Danshen injection by HPLC–UV and HPLC–MS methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 36, p. 1029-1035, 2005.

ZUARDI, A. W. History of cannabis as a medicine: a review. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, v. 28, n. 2, p. 153-157, 2006.

ZURARDI, A. W. et alii. *Dependência Química. Prevenção, Tratamento e Políticas Públicas*. 1 ed. Editora Artmed: Porto Alegre, 2011.