

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

**Análises de Padrões Isoméricos de Canabinóides e
Produtos de *Cannabis* por GC-MS, GCxGC-qMS e UPLC
Acoplado a Espectrometria de Massas de Mobilidade
Iônica (TWIM-MS)**

Analysis of isomeric cannabinoids standards and *Cannabis* products by GC-MS, GCxGC-qMS and UPLC coupled to Ion Mobility Mass Spectrometry (TWIM-MS)

Nayara Araújo dos Santos

Dissertação de Mestrado em Química

**Vitória
2018**

Nayara Araujo dos Santos

Análises de Padrões Isoméricos de Canabinóides e Produtos de *Cannabis* por GC-MS, GCxGC-qMS e UPLC Acoplado a Espectrometria de Massas de Mobilidade Iônica (TWIM-MS)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Química

Área de Concentração: Química

Linha de Pesquisa: Química Forense

Orientador: Prof. Dr. Wanderson Romão

Co-orientador: Prof. Dr. Boniek Gontijo Vaz

**VITÓRIA
2018**

Análises de Padrões Isoméricos de Canabinóides e Produtos de *Cannabis* por GC-MS, GCxGC-qMS e UPLC Acoplado a Espectrometria de Massas de Mobilidade Iônica (TWIM-MS)

Nayara Araujo dos Santos

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

Aprovado(a) em 15/02/2018 por:

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

Prof. Dr. Boniek Gontijo Vaz
Universidade Federal de Goiás
Co-orientador

Perito Dr. Rafael Scorsatto Ortiz
Perito Criminal Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster
Universidade Federal do Espírito Santo

Universidade Federal do Espírito Santo
Vitória, Fevereiro de 2018

À minha maravilhosa família pelo amor e apoio.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus por todo amor, força, saúde, consolo, direção e por ser o motivo da minha vida.

Aos meus amados pais: Sônia e Aldari e irmãos: Amanda, Simone e Diego, por todo amor e incentivo. Vocês são a minha base. E também a minha querida sobrinha Gabriella. Sou grata a Deus por tê-los.

Ao meu esposo André, por toda paciência e amor.

Aos meus familiares e amigos; Eugênia, Vanessa, Livia, Claudita, Diogo, Zé, Nathy, Duda, Arthur, Heitor, Joseanne, Priscila, Emanuel, Adi, Alejandra, Dani, Lilian, Kelly, Talita, Vitor, Victor, Bruno, Rafaella, Filipe, Caroline, tios, tias, primos e primas, por todo apoio e amizade.

A equipe do Laboratório de Petroleômica e Forense com os quais dividi mais que apenas um espaço físico, dividimos experiências, à Linda, Fernanda, Flávia, Eliane, Lilian, Radigya, Larissa, Rayana, Bruno, Heloisa, Heloá, Mariana, Camila, Gabi e Dani, meus sinceros agradecimentos.

Ao meu orientador, Wanderson Romão, pela oportunidade, por ter acreditado no meu trabalho, pela competência e por me ensinar, cada dia um pouco mais, a fazer ciência com qualidade.

Aos professores Ricardo Kuster, Álvaro, Warley, Hildegardo, Boniek e Valdemar pelos ensinamentos compartilhados.

A Polícia Civil do Estado do Espírito Santo por fornecer o material para realização das análises.

À Polícia Federal do Rio Grande do Sul, especialmente ao Rafael Ortiz e Sander.

À Waters, ao Michael Murgu, grande profissional.

Ao LabPetro, e seus excelentes funcionários, Edléia, Suzy, Carlão e Kaka.

Ao PPGQUI-UFES, especialmente ao Alex.

À Capes e à Fapes, pelas bolsas e oportunidades concedidas.

E aos demais que de alguma forma contribuíram para este trabalho, meus sinceros agradecimentos.

“Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima”.

Louis Pasteur

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número de apreensões de maconha pela Polícia Federal do Brasil em função do tempo (2003-2016)	17
Figura 2. Anagrama da palavra cânhamo.....	21
Figura 3. Dez canabinóides principais que representam os dez dos onze grupos da classe canabinóides.	26
Figura 4. Canabinóides isômeros e suas fórmulas moleculares, DBE e massa exata: (a) $C_{21}H_{26}O_2$, (b) $C_{21}H_{30}O_2$, (c) $C_{22}H_{30}O_4$	27
Figura 5. Partes da planta <i>Cannabis</i> ; a) flor; b) folha; c) caule; d) raiz e e) semente	28
Figura 6. Diagrama esquemático de um espectrômetro de massas.....	31
Figura 7. Diagrama esquemático do GC-MS.....	33
Figura 8. Esquema demonstrativo do princípio básico da separação por mobilidade iônica.....	37
Figura 9. Perfil cromatográfico para os padrões de (a) Δ^9 -THC; (b) CBD; (c) CBC; (d) CBG e (e) CBN.	43
Figura 10. Perfil de fragmentação, EI-MS, dos cinco padrões neutros analisados: (a) Δ^9 -THC; (b) CBD; (c) CBG; (d) CBG e (e) CBN.	44
Figura 11. Cromatogramas obtidos a partir de GC $\times$ GC-qMS na análise de: (a) haxixe; (b) flor e (c) folha.	46
Figura 12. Cromatogramas obtidos por UPLC-ESI(+)-TOF-MS a partir da análise dos padrões de canabinóides de m/z 315: (a) Δ^9 -THC; (b) CBD e (c) CBC	48
Figura 13. Experimentos de CID por ESI(+)-MS/MS para os íons de m/z 315 dos padrões de canabinóides: (a) Δ^9 -THC; (b) CBD e (c) CBC.	49
Figura 14. Proposta de mecanismo reacional simplificado a partir dos principais fragmentos identificados nos experimentos de CID realizados em três padrões isoméricos: (a) CBD, (b) Δ^9 -THC e (c) CBC.....	50
Figura 15. Proposta de mecanismo reacional sugeridos a partir dos principais fragmentos dos padrões isoméricos de canabinóides nos experimentos de CID, transições m/z 315 $\rightarrow$ 193: (a) CBD; (b) Δ^9 -THC; (c) CBC e transições (d) m/z 193 $\rightarrow$ 123 semelhante para todos.	51
Figura 16. Cromatogramas obtidos por UPLC-ESI(+)-TOF-MS a partir da análise:	

(a) mistura isomérica dos padrões CBD, Δ^9 -THC e CBC (modo <i>full scan</i>); (b) amostra de maconha e (c) amostra de haxixe (modo XIC m/z 315).	52
Figura 17. Cromatogramas obtidos por UPLC-ESI(+)TOF MS a partir da análise: (a) mistura isomérica dos padrões Δ^9 -THC, CBD e CBC; (b) amostra de maconha e (c) amostra de haxixe, no modo <i>full scan</i>	53
Figura 18. Comparação do perfil cromatográfico entre as técnicas de UPLC-ESI(-)TOF MS e UPLC-ESI(-)TWIM MS (SYNAPT G2-S) para os padrões de (a e d) Δ^9 -THCAA; (b e e) CBDA, bem como a mistura equimolar destes (c e f)	54
Figura 19. Estrutura molecular: (a) Δ^9 -THCAA ou B e (b) Δ^8 -THCAA ou B.	54
Figura 20. Experimentos de CID para os íon de m/z 357 correspondente aos padrões isoméricos de (a) CBDA e (b) Δ^9 -THCAA.	56
Figura 21. Proposta de mecanismo reacional simplificado a partir dos principais fragmentos identificados nos experimentos de CID realizados em dois padrões ácidos isoméricos: (a) CBDA e (b) Δ^9 -THCAA, a partir de ESI(-)MS/MS m/z 357	57
Figura 22. Cromatogramas obtidos por UPLC-ESI(-)TWIM MS no modo <i>full scan</i> e XIC, m/z 357 para as amostras de (a e d) folha; (b e e) flor; (c e f) haxixe.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Canabinóides identificados na planta <i>Cannabis</i>	22
Tabela 2. Tempo de retenção em minutos e similaridade a partir da biblioteca NIST dos cinco padrões de canabinóides analisados	44
Tabela 3. Canabinóides identificados nas amostras de haxixe, flor e folha de <i>Cannabis</i> a partir dos dados de GC×GC-qMS, bem como seus respectivos valores de M_w , e similaridade.....	47
Tabela 4. m/z medido, canabinóide proposto e quantidades detectadas em amostras de folha, flor e haxixe por UPLC-ESI(-)TWIM MS	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

¹D – Primeira dimensão

²D – Segunda dimensão

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

-C₁₈H₃₇ – Octadecil

-C₈H₁₇ – Octil

-COOH – Carboxila

-OH – Hidroxila

CBC – Canabicromeno

CBCA – Ácido canabicromênico

CBD – Canabidiol

CBDA – Ácido canabidiólico

CBG – Canabigerol

CBGA – Ácido canabigerólico

CBL – Canabiciolol

CBN – Canabinol

CBNA – Ácido canabinólico

CBT – Canabitriol

CID – *Collision-induced dissociation*

DBE – *Double bound equivalente*

FE – Fase estacionária

FM – Fase móvel

FT-ICR MS – *Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry*

GC-MS – *Gas Chromatography Mass Spectrometry*

GCxGC – *Comprehensive two-dimensional gas chromatography*

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

IMMS – *Ion mobility mass spectrometry*

IMS – *Ion mobility spectrometry*

MS – *Mass Spectrometry*

M_w – *Average molecular weight*

NCQP – Núcleo de Competências em Química do Petróleo

NIST – *National Institute of Standards and Technology*

OMS – Organização Mundial da Saúde

PC-ES – Polícia Civil do Espírito Santo

RF – Radiofrequência

TWIM – *Traveling-wave ion mobility-mass spectrometry*

UFES – Universidade Federal do Espírito Santo

UNODC – *United Nations Office on Drugs and Crime*

UPLC – *Ultra-Performance Liquid Chromatography*

XIC – *Extracted ion chromatograms*

Δ^8 -THC – Δ^8 -tetraidrocanabinol

Δ^8 -THCA – Δ^8 -ácido tetraidrocanabinol

Δ^9 -THC – Δ^9 -tetraidrocanabinol

Δ^9 -THCA – Δ^9 -ácido tetraidrocanabinol

LISTA DE SÍMBOLOS

°C – Grau Celsius

g – Grama

kV – Quilovolt

L – Litro

m – Mili

m/z – Razão massa carga

min – Minuto

Nº – Número

ppm – Partes por milhão

μ – Micro

RESUMO

A planta *Cannabis sativa* L., popularmente conhecida como maconha, é considerada uma matriz complexa devido aos seus muitos constituintes, entre eles mais de 100 são classificados como canabinóides, que estão distribuídos na planta em diferentes formas isoméricas, o que dificulta a caracterização inequívoca dos compostos psicoativos. Portanto, o presente estudo descreveu a análise de sete padrões de canabinóides (cinco neutros: Δ^9 -THC, CBD, CBC, CBN e CBG e dois padrões de canabinóides ácidos: Δ^9 -THCA A e CBDA), bem como produtos de *Cannabis* (haxixe e maconha) e partes da planta (flor e folha) usando quatro técnicas analíticas diferentes, cromatografia gasosa mono (GC-MS) e bidimensional (GCxGC-qMS), cromatografia líquida de ultra performance acoplada à espectrometria de massa (UPLC-ESI($\pm$))TOF-MS) e espectrometria de mobilidade iônica (UPLC-ESI($\pm$))TWIM MS). Os resultados obtidos por GC-MS demonstraram tempos de retenção extremamente próximos ($\Delta t=1,303$ min) nos cinco canabinóides analisados a partir da utilização de uma fase estacionária apolar, DB5. No entanto, a cromatografia bidimensional resultou em uma melhor distinção na identificação de canabinóides isômeros constitucionais, onde quatro, de onze canabinóides, foram detectados nas três amostras; haxixe, flor e folha de *Cannabis*. As análises, por UPLC-TOF, ESI(+), das amostras de maconha e haxixe, possibilitaram a identificação de oito isômeros no modo XIC m/z 315,2354. Nas análises por UPLC-ESI(-)TWIM MS, uma grande quantidade de compostos foi principalmente detectada para as amostras de haxixe e flor. Quanto aos canabinóides de m/z 357, dez picos puderam ser detectados, distribuídos igualmente, nos cromatogramas da flor e do haxixe. E, apesar da cromatografia gasosa ser uma das técnicas mais utilizadas no estudo dos canabinóides em *Cannabis* e seus produtos, a mesma não permite a identificação dos canabinóides ácidos, que estão amplamente disponíveis na planta, sem etapas preparativas laboriosas anteriores. Diferentemente, a cromatografia líquida, combinada a espectrometria de massas de mobilidade iônica, possibilitou a identificação de ambos tipos de canabinóides (ácidos e neutros), além de proporcionar uma maior detecção de compostos isoméricos constitucionais comparada a técnica cromatográfica gasosa clássica.

Palavras-chave: Canabinóides. Isômeros. Δ^9 -THC. Espectrometria de Massas.

ABSTRACT

Cannabis sativa L. plant, popularly known as marijuana, is considered a complex matrix due to its many constituents, among them more than 100 are classified as cannabinoids. These compounds are distributed in the plant in different isomeric forms, which hinders the unambiguous characterization of the psychoactive compounds. Therefore, the present study reported the analysis of seven cannabinoid standards (five neutral: Δ^9 -THC, CBD, CBC, CBN and CBG, and two cannabinoid acid standards: Δ^9 -THCA A and CBDA), as well as *Cannabis* products (hashish and marijuana) and parts of the *Cannabis* plant (flower and leaf) using four different analytical techniques, mono and two-dimensional gas chromatography (GC-MS and GCxGC-qMS), Ultra performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry (UPLC-ESI($\pm$)-TOF-MS) and ion mobility spectrometry (UPLC-ESI($\pm$)-TWIM MS). The results obtained by GC-MS demonstrated extremely close retention times ($\Delta t=1.303$ min) in the five cannabinoids analyzed from the use of a non-polar stationary phase, DB5. However, GCxGC-qMS resulted in a better distinction in the identification of cannabinoids constitutional isomers, where four of eleven cannabinoids were detected in the three samples; hashish, flower and *Cannabis* leaf. The analysis, by UPLC-ESI($\pm$)-TOF-MS, of marijuana and hashish samples, allowed the identification of eight isomers in the XIC mode at m/z 315.2354. In the analyzes by UPLC-ESI(-)-TWIM MS, a large number of compounds was mainly detected for hashish and flower samples. As for cannabinoids of m/z 357, ten peaks could be detected, equally distributed, in flower and hashish chromatograms. Although GC is one of the most used techniques in the study of cannabinoids in *Cannabis* and its products, it does not allow the identification of acid cannabinoids, which are widely available in the plant, without previous laborious preparatory stages. Differently, liquid chromatography combined with ion mobility mass spectrometry, allowed the identification of both types of cannabinoids (acids and neutrals), in addition to providing a greater detection of constitutional isomers compounds compared to classical GC technique.

Keyword: Cannabinoids. Isomers. Δ^9 -THC. Mass Spectrometry.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1 Química Forense	18
1.2 <i>Cannabis Sativa</i> L. e seus produtos	20
1.3 Canabinóides	22
1.4 Legislação Brasileira	29
1.5 Técnicas para identificação de canabinóides	30
1.5.1 Teste colorimétrico	30
1.5.2 Espectrometria de Massas	31
1.5.3 Cromatografia Gasosa	32
1.5.4 Cromatografia Líquida	35
1.5.5 Mobilidade Iônica	35
2. OBJETIVOS	39
2.1 Geral	39
2.2 Específico	39
3. METODOLOGIA	40
3.1 Amostras e Reagentes	40
3.1.1 Padrões Isoméricos de canabinóides	40
3.1.2 <i>Cannabis</i> e seus produtos	40
3.2 GC-MS	40
3.3 GCxGC-qMS	41
3.4 UPLC-ESI(±)TWIM-MS e ESI(±)MS/MS	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
4.1 GC-MS	43
4.2 GCxGC-qMS	45
4.3 UPLC-ESI(+)TOF-MS, e ESI(+)MS/MS	48
4.4 UPLC-ESI(-)TOF-MS, UPLC-ESI(-)TWIM-MS, e ESI(-)MS/MS	53

5. CONCLUSÕES	60
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

1. INTRODUÇÃO

O ramo da química voltado para a produção de provas materiais para a justiça, através de análise de diversas matrizes, tais como drogas, venenos, resíduos de incêndio ou disparo de armas de fogo, entre outros, é chamado de química forense.¹

Esta ciência baseia-se nos princípios da química e seus conceitos para analisar as evidências físicas e investigar as propriedades físico-químicas de uma substância, além de auxiliar na caracterização e individualização da mesma, aplicando os princípios científicos, técnicas e métodos para a investigação do delito.²

A evolução da química forense tem sido proporcional ao desenvolvimento de instrumentos sofisticados, cada vez mais precisos, sensíveis e de simples metodologia,³ a fim de garantir um alto nível de confiabilidade, além de procurar esclarecer, com o máximo de detalhes, casos judiciais.⁴

Além disso, para o químico forense oferecer uma resposta rápida e confiável, é necessário que tenha acesso a técnicas analíticas simples, robustas e minimamente destrutivas.⁴

Em particular, no estudo com drogas de abuso, que tem se tornado área de grande interesse dos cientistas, a identificação de substâncias específicas, que as caracterizam como droga, tem se destacado.⁵

Entre as drogas de abuso mundialmente conhecidas, a produção de *Cannabis* continua a ser um fenômeno global, onde já foram relatadas apreensões em até 135 países no período de cinco anos. Em 2015, cerca de 183 milhões de pessoas, com idade entre 15-64 anos, fizeram uso da planta *Cannabis sativa* L. para fins não medicinais.⁶

A *Cannabis* é uma planta de cultivo anual propagada a partir de sementes, que cresce em condições adequadas, tais como ambientes ensolarado, abertos, com solo drenado, nutrido e com acesso a água. A altura da planta pode atingir até cinco metros em um intervalo de crescimento de quatro a oito meses.⁷

A polícia Federal no ano de 2013 apreendeu 838.000 (oitocentos e trinta e oito mil) pés de *Cannabis*, que representam aproximadamente 250 (duzentos e cinquenta) toneladas de maconha erradicadas e que deixaram de ser introduzidas no comércio ilegal.^{8,9}

No geral, a maconha lidera os *rankings* de apreensão no Brasil quando comparada as demais drogas ilícitas apreendidas no território nacional, alcançando, em 2016, um total de 224.829 kg de maconha apreendida, **figura 1**.¹⁰

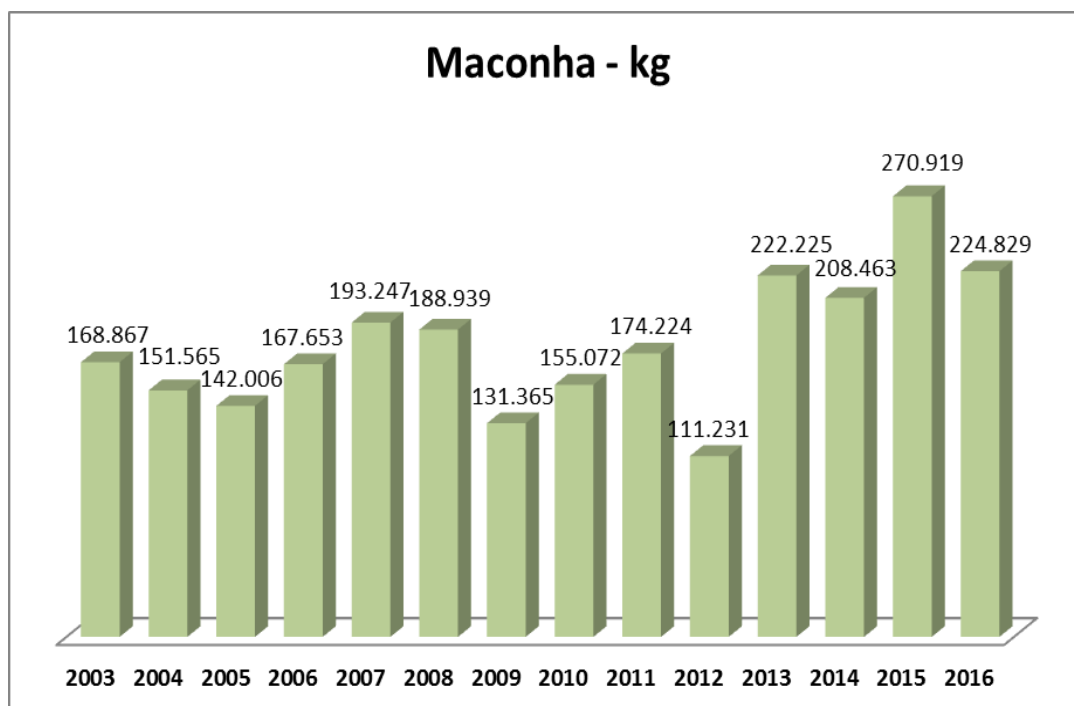


Figura 1. Número de apreensões de maconha pela Polícia Federal do Brasil em função do tempo (2003-2016).¹⁰

Quanto às altas taxas de homicídios registradas no Brasil, em grande parte devem-se, a três fatores principais: a fácil disponibilidade de armas de fogo, ao consumo abusivo de álcool e à presença das drogas ilícitas.¹¹

Como consequência, ao uso abusivo de drogas, especialmente a maconha, o tráfico de drogas vem resultando em uma sociedade desestruturada quanto aos aspectos sociais e econômicos como a segurança pública, saúde, violência e também à qualidade de vida num modo geral.¹²

No entanto, apesar da sua ilegalidade para fins de consumo no país e seus efeitos tóxicos, a *Cannabis* pode ainda apresentar efeitos terapêuticos e é reconhecida como medicamento em algumas condições clínicas específicas.^{13,14}

A grande extensão nacional, mais de 15.000 km de fronteiras continentais, permite que o Brasil tenha várias “portas de entrada” desta droga ilícita. Somado a isso, há ainda uma grande produção interna de *Cannabis*, que vem tornando o tráfico de drogas no país uma tarefa árdua para a qual a área forense busca novas e eficientes ferramentas que auxiliem tanto na identificação de possíveis rotas de tráfico, como possíveis vínculos entre o perfil da droga e as regiões nas quais estas

foram apreendidas, além da identificação da origem da droga a partir do estudo do seu perfil químico.¹⁵

Sendo assim, o presente trabalho apresenta um estudo realizado a partir de produtos da droga mundialmente mais utilizada para fins abusivos, oriunda da planta *Cannabis*, haxixe, maconha, e partes da planta, flor e folha, além de sete padrões de referência de canabinóides, com objetivo de identificar diferentes compostos canabinóides isoméricos, a partir da comparação das análises de diferentes técnicas analíticas cromatográficas mono e bidimensional acopladas a espectrômetro de massas e a cromatografia líquida de alta performance combinada a espectrometria de mobilidade iônica.

1.1 Química Forense

A química forense é uma das áreas de maior alcance dentro da perícia. Com auxílio da tecnologia e de técnicas analíticas, cada vez mais a química tem sido utilizada para elucidar controvérsias legais. Muitos são os casos em que seus conhecimentos são indispensáveis para solucionar crimes, uma vez que são aplicados aos mais diversos tipos de vestígios. Além disso, a química também pode ser utilizada para a solução de outras lides que não as penais. Há casos, por exemplo, em que pode ser aplicada para esclarecer fatores técnicos sobre ações propostas nos âmbitos civil e trabalhista.^{5,16} E além de despertar grande interesse por parte da sociedade científica, tem colaborado para uma nova linha de pesquisa com caráter crescente no Brasil.¹⁶

Grande parte da literatura aponta o século XIX como o grande marco do início do uso das ciências forenses e suas aplicações práticas, uma vez que anteriormente havia pouco desenvolvimento nas ciências básicas tais como química, física, biologia e medicina. O campo era restrito à investigação de evidências residuais e mortes por envenenamento.^{5,17}

A química forense é também conceituada como a ciência utilizada para investigar aspectos legais que se correlacionam a conhecimentos químicos. Em termos penais, é a área da Criminalística que se encarrega da análise, classificação e identificação dos elementos ou substâncias encontradas nos locais de ocorrência de um delito ou que podem estar relacionadas a este.⁵

A química foi uma das primeiras especialidades a ser requisitada pela investigação criminal no Brasil, inicialmente com a área de identificação de agentes

tóxicos, posteriormente ampliando e diversificando-se na Criminalística, na qual conquistou e mantém posição de destaque.^{18,19}

As análises com interesse criminal realizadas, frequentemente, pelos setores de química forense são: análise de drogas de abuso, análise de adulterações em numerações de veículos e armas, análise de resíduos de disparos de arma de fogo, investigação de fraude em medicamentos, gêneros alimentícios, combustíveis e análise de vestígios em cenas de crime.⁵

Especialmente em relação à análise de drogas de abuso, o mesmo é caracterizado por ser o campo com maior demanda de exames em todos os estados brasileiros, dado o elevado consumo de drogas ilícitas, fato intimamente ligado ao aumento da violência e criminalidade.⁵

As drogas de abuso são substâncias químicas naturais ou sintéticas que, após administração, interferem no funcionamento dos organismos vivos. E o uso das mesmas para fins recreacionais tem sido relatado ao longo da história da humanidade, e são denominadas como psicoativas ou psicotrópicas, que atuam no sistema nervoso central (SNC), onde são classificadas de acordo com sua ação:¹¹

- a) Depressores do SNC: opiáceos/opioides, etanol e barbitúricos;
- b) Estimulantes do SNC: cocaína ou crack, anfetaminas, metanfetaminas e anorexígenos;
- c) Perturbadores do SNC: drogas alucinógenas, como LSD, psilocibina, mescalina e canabinóides.¹¹

O exame preliminar ou de constatação é uma espécie de triagem aplicada sobre materiais apreendidos com suspeita de serem drogas de abuso. Os testes preliminares são baseados em reações colorimétricas, fáceis de reproduzir, de custo acessível e passíveis de serem transportados e aplicados de forma simples, rápida e em qualquer local.⁵

Já a identificação química inequívoca de droga (exame definitivo) é uma tarefa bastante sensível, visto que as substâncias podem assumir diferentes formas de apresentação e diferentes teores.⁵ Portanto, evolução da ciência forense tem sido diretamente proporcional à capacidade de instrumentação cada vez mais sofisticada.³

1.2 *Cannabis sativa* L. e seus produtos

A *Cannabis sativa* L. é considerada uma das plantas mais antigas conhecida pelo homem.^{8,20} Evidências arqueológicas indicam que a mesma foi cultivada na Ásia Central 12.000 a.C.²¹ Também existem relatos de sua utilização como remédio, em cerimônias religiosas e para fins recreativos por diversos anos, porém somente em 1753, a *Cannabis sativa* L. foi classificada botanicamente pelo sueco Carolus Linnaeus (Carl Von Linné).^{20,22}

Classificação botânica de acordo com *United States Department of Agriculture* (2016):²³

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*.²³

Trata-se de uma planta anual e pertencente à família *Cannabaceae* e gênero *Cannabis* L. Outras espécies previamente relatadas para o gênero, como *Cannabis indica* Lam. e *Cannabis ruderalis* Janisch, são atualmente reconhecidas como variedades de *Cannabis sativa* L.²⁴⁻²⁷

A *Cannabis* é uma planta dióica, portanto possui espécies femininas e masculinas e é cultivada em praticamente todos os países.^{13,27} A mesma possui muitos nomes e sinônimos, entre eles destacam-se: cânhamo, marijuana, marihuana, hemp, pot, gândia, grass, chanvre e maconha, como é popularmente conhecida no Brasil.^{28,29}

A palavra portuguesa maconha é originária a partir do anagrama da palavra cânhamo, **figura 2**, isto é, tem as mesmas letras, em outra ordem.²⁸

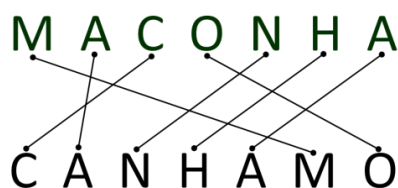


Figura 2. Anagrama da palavra cânhamo.²⁸

A *Cannabis* foi a primeira planta cultivada sem o propósito de servir de alimento, e sim de produzir, no início, fibra para fiação de tecido e, mais tarde, a fabricação de papel.²⁹ Posteriormente outros de seus produtos, como as sementes, foram utilizadas na alimentação humana e animal, e a sua resina como composição para fabricação de compostos aromáticos.^{7,30}

Os produtos de *Cannabis* aparecem em mercados ilícitos em inúmeras formas, resultados de outra finalidade no cultivo, que é para fins recreativos, pois a partir desta, obtém-se materiais do tipo “buchas” de maconha, haxixe e o óleo de haxixe, componentes que contêm maior concentração da classe canabinóide, aos quais são atribuídas as propriedades psicotrópicas responsáveis pela classificação desses derivados como entorpecentes.²⁷

As “buchas” de maconha ou apenas maconha são nomes usados para denominar às folhas secas juntamente com outras partes da *Cannabis*, como flores, caules, raízes e até mesmo sementes, utilizada na forma ilícita, fumada.^{31,32}

O haxixe é uma pasta semissólida de coloração marrom, normalmente consumida via cachimbo ou na forma de aditivo dos cigarros convencionais de maconha. Já o seu óleo é um composto viscoso, escuro, com odor característico, também extraído da planta, principalmente das inflorescências.¹¹

As espécies femininas são mais ricas em compostos psicoativos comparadas às espécies masculinas de *Cannabis*, porem, geralmente as masculinas são mais altas e menos robustas, atingindo a média de 1-3 metros de altura. A extensão da ramificação, altura da planta, bem como a disposição dos seus constituintes dependem de diversos fatores, dentre eles: condições ambientais, origem geográfica, método de secagem, tipo de produção - “indoor” ou “outdoor”-, estágio de maturidade da planta, etc.^{7,33}

Técnicas de plantio clássicas e inovadoras têm sido utilizadas para melhorar e diversificar as formas das drogas recreativas de *Cannabis*, resultando assim em muitas cultivares ricas em canabinóides adequadas para o uso recreativo.⁷

A *Cannabis* é ainda considerada uma matriz complexa devido aos diversos compostos presentes em sua composição, que estão distribuídos entre várias classes químicas, tais como terpenos, açúcares, hidrocarbonetos, esteróides, flavonóides, aminoácidos, entre outros.^{8,30} Além disso, tem sido objeto de discussões crescente dos pontos de vista científico e político devido às propriedades medicinais que alguns de seus compostos apresentam.^{33,34}

Mais de 700 constituintes naturais foram identificados na planta³⁵ destacando-se a classe dos canabinóides, que contempla os principais compostos responsáveis pelas atividades biológicas da mesma, e são, em sua maioria, compostos terpenofenólicos, tricíclicos e possuem uma fração benzopirano em suas estruturas.^{8,36-38}

1.3 Canabinóides

Atualmente já foram identificados mais de 100 compostos classificados como canabinóides na planta *Cannabis sativa* L.,^{36,39,40} **tabela 1**,⁴⁰ que estão concentrados nas secreções resinosas produzidas por tricomas glandulares distribuídos, principalmente, nas superfícies aéreas da planta e nas inflorescências femininas.³⁶

Tabela 1. Canabinóides identificados na planta *Cannabis*.⁴⁰

Composto	Nome	Abreviação/sigla
1	(-)- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabinol	Δ^9 -THC-C ₅
2	(-)- Δ^9 - <i>trans</i> - ácido tetraidrocanabinol A	Δ^9 -THCA-C ₅ A
3	(-)- Δ^9 - <i>trans</i> - ácido tetraidrocanabinol B	Δ^9 -THCA-C ₅ B
4	(-)- Δ^9 - <i>trans</i> - tetraidrocanabinol A – C ₄	Δ^9 -THC-C ₄
5	(-)- Δ^9 - <i>trans</i> - ácido tetraidrocanabinol A – C ₄	Δ^9 -THCA-C ₄
6	(-)- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabivarin	Δ^9 -THCV-C ₃
7	(-)- Δ^9 - <i>trans</i> -ácido tetraidrocanabivarin	Δ^9 -THCVA-C ₃
8	(-)- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabiorcol	Δ^9 -THCO-C ₁
9	(-)- Δ^9 - <i>trans</i> -ácido tetraidrocanabiorcol	Δ^9 -THCOA-C ₁ A
10	β -fenchil- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabinolato	-
11	α -fenchil- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabinolato	-
12	epi-bornyl- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabinolato	-
13	bornyl- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabinolato	-
14	α -terpenil- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabinolato	-
15	4-terpenil- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabinolato	-
16	α -cadinil- Δ^9 - <i>trans</i> - tetraidrocanabinolato	-
17	γ -eudesmil- Δ^9 - <i>trans</i> - tetraidrocanabinolato	-
18	Canabisol	-
19	8 α -hidroxi- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabinolato	-
20	8 β -hidroxi- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabinolato	-
21	11-acetoxi- Δ^9 - <i>trans</i> -ácido tetraidrocanabinolico A	-
22	Δ^9 -THC aldeído	-

23	8-oxo- Δ^9 - <i>trans</i> -tetraidrocanabinol	-
24	Δ^8 -tetraidrocanabinol	Δ^8 -THC-C ₅
25	Δ^8 -ácido tetraidrocanabinólico A	Δ^8 -THCA-C ₅ A
26	10 α -hidroxi- Δ^8 -tetraidrocanabinol	-
27	10 β -hidroxi- Δ^8 -tetraidrocanabinol	-
28	10 $\alpha\alpha$ -hidroxi-10-oxo- Δ^8 -tetraidrocanabinol	-
29	Canabigerol	[(E)-CBG-C ₅]
30	Ácido canabigerólico	[(E)-CBGA-C ₅]
31	Canabigerol monometil-eter	[(E)-CBG-C ₅]
32	Ácido canabigerólico monometil-eter	[(E)-CBGAM-C ₅]
33	Ácido Canabigerovarínico A	[(E)-CBGVA-C ₅]
34	Canabigerovarínico	[(E)-CBGV-C ₃]
35	Ácido canabinerólico A	[(Z)-CBGVA-C ₅]
36	Camagerol	-
37	γ -eudesmil-canabigerolato	-
38	α -cadinil-canabigerolato	-
39	Sesquicanabigerol	-
40	5-acetil-4-hidroxi-canabigerol	-
41	($\pm$)-6,7- <i>trans</i> -ácido epoxicanabigerólico	-
42	($\pm$)-6,7- <i>cis</i> -ácido epoxicanabigerólico	-
43	($\pm$)-6,7- <i>trans</i> -epoxicanabigerol	-
44	($\pm$)-6,7- <i>cis</i> -epoxicanabigerol	-
45	($\pm$)-canabicromeno	CBC-C ₅
46	($\pm$)-ácido canabicroménico	CBCA-C ₅
47	($\pm$)-canabivaricromeno	CBCV-C ₃
48	($\pm$)-canabivaricromeno	CBCVA-C ₃
49	(+)-ácido canabivaricromeno	CBCV-C ₃
50	2-metil-2-(4-metil-2-pentil)-7-propil-2H-1-benzopirano-5-ol	-
51	($\pm$)-4-acetoxicanabicromeno	-
52	($\pm$)-3"-hidroxi- Δ^4 "-canabicromeno	-
53	(-)-7-hidroxicanabicromeno	-
54	Cannabidiol	CBD-C ₅
55	Ácido canabidiólico	CBDA-C ₅
56	Canabidiol monometil-eter	CBDM-C ₅
57	Canabidiol-C ₄	CBD-C ₄
58	Cannabidivarin	CBDV-C ₃
59	Ácido canabidivarínico	CBDVA-C ₃
60	Canabidiorcol	CBD-C ₁
61	Cannabinodiol	CBND-C ₅
62	Canabinovarin	CBND-C ₃
63	Ácido canabielsóico A	CBEA-C ₅ A
64	Canabielsoin	CBE-C ₅
65	Ácido canabielsóico B	CBEA-C ₅ B
66	Ácido canabielsoin B – C ₃	CBEA-C ₃ B
67	Canabielsoin – C ₃	CBE-C ₃
68	Canabicitol	CBL-C ₅
69	Ácido canabicitólico	CBLA-C ₅
70	Canabicitovarin	CBLV-C ₅
71	Canabinol	CBN-C ₅

72	Ácido canabinólico	CBNA-C ₅
73	Canabinol metil-éter	CBNM-C ₅
74	Canabinol – C ₄	CBN-C ₄
75	Canabivarin	CBN-C ₃
76	Canabinol – C ₂	CBN-C ₂
77	Canabiorcol – C ₁	CBN-C ₁
78	4-terpenil canabinolato	-
79	8-hidroxi ácido canabinólico A	-
80	8-hidroxicanabinol	-
81	1`S-hidroxi-canabinol	-
82	(-)- <i>trans</i> -canabitriol	(-)- <i>trans</i> -CBT-C ₅
83	(+)- <i>trans</i> -canabitriol	(+)- <i>trans</i> -CBT-C ₅
84	(±)- <i>cis</i> -canabitriol	(±)- <i>cis</i> -CBT-C ₅
85	(-)- <i>trans</i> -10-etoxi-9-hidroxi- $\Delta^{6a(10a)}$ - tetraidrocanabinol	(-)- <i>trans</i> -CBT- Oet-C ₅
86	(±)- <i>trans</i> -canabitriol – C ₃	(±)- <i>trans</i> -CBT-C ₃
87	Canabitriol-C ₃ -homologo (estereoquímica desconhecida)	CBT-C ₃ - homologo
88	(-)- <i>trans</i> -10-etoxi-9-hidroxi- $\Delta^{6a(10a)}$ - tetraidrocanabivarin – C ₃	(-)- <i>trans</i> -CBT- Oet-C ₃
89	8,9-diidroxi- $\Delta^{6a(10a)}$ -tetraidrocanabinol	8,9-di-OH-CBT- C ₅
90	Ácido canabidiólico tetraidrocanabitriol ester	CBDA-C ₅ -9-OH- CBT-C ₅ -éster
91	Deidrocanabifurano	DCBF-C ₅
92	Canabifurano	CBF-C ₅
93	10-oxo- $\Delta^{6a(10a)}$ -tetrahydrocanabinol	OTHC
94	8-hidroxi-isohexahidrocanabivarin	OH-iso-HHCV-C ₃
95	Canabicromanone – C ₅	CBCN-C ₅
96	Canabicromanone – C ₃	CBCN-C ₃
97	Canabicitran	-
98	(-)- Δ^9 - <i>cis</i> -(6aS,10aR)-tetraidrocanabinol	<i>cis</i> - Δ^9 -THC
99	Cannabicumaronone – C ₅	CBCON-C ₅
100	Canabiripsol	CBR
101	Canabitetrol	CBTT
102	(±)- Δ^7 - <i>cis</i> - isotetraidrocanabivarin – C ₃	<i>cis</i> -iso- Δ^7 -THCV
103	(-)- Δ^7 <i>trans</i> -(1R,3R,6R)-isotetraidrocanabivarin – C ₃	<i>trans</i> -iso- Δ^7 - THCVC-C ₃
104	(-)- Δ^7 <i>trans</i> -(1R,3R,6R)-sotetraidrocanabivarin – C ₅	<i>trans</i> -iso- Δ^7 -THC
105	Canabicromanone B	-
106	Canabicromanone C	-
107	Canabicromanone D	-
108	(-)-(7R)-ácido canabicoumarononique	-
109	4-actoxi-2-geranil-5-hidroxi-3-n-pentilfenol	-
110	2-geranil-5-hidroxi-3-n-pentil-1,4-benzoquinona	-
111	2-geranil-5-hidroxi-3-n-pentil-1,4-benzoquinona	-
112	Cannabimovone	CBM
113	Cannabioxepano	CBX
114	10 α -hidroxi- $\Delta^{9,11}$ -hexaidrocanabinol	-

115	9 β , 10 β -epoxihexaidrocanabinol	-
116	9 α -hidroxihexaidrocanabinol	-
117	7-oxo-9 α -hidroxihidrocanabinol	-
118	10 α -hidroxihexaidrocanabinol	-
119	10 $\alpha\alpha$ -hidroxihexaidrocanabinol	-
120	9 α -hidroxi-10-oxo- $\Delta^{6a,10a}$ -THC	-

Estes canabinóides são distribuídos em onze grupos, **figura 3**, (1) canabigerol (CBG), (2) canabicromeno (CBC), (3) canabidiol (CBD), (4) Δ^9 -tetraidrocanabinol (Δ^9 -THC), (5) Δ^8 -tetraidrocanabinol (Δ^8 -THC), (6) canabiciolol (CBL), (7) canabielsoin (CBE), (8) canabinol (CBN), (9) canabinodiol (CBND), (10) canabitriol (CBT), e (11) tipos diferentes de canabinóides, dos quais, dez desses onze grupos são representados por um canabinóide principal:²⁷

Grupo 1: CBG, foi o primeiro canabinóide identificado, e seu precursor o ácido canabigerólico (CBGA) é o primeiro canabinóide biogênico formado na planta.⁷

Grupo 2: CBC, descoberto em 1966 e por consequência outros compostos do tipo CBC foram sequencialmente identificados. Além disso, a partir do estudo da oxidociclização do CBGA (Grupo 1) gera-se o ácido canabicromênico (CBCA), forma ácida do canabinóide CBC.^{27,41}

Grupo 3: CBD, isolado em 1940,⁴² mas sua estrutura correta foi elucidada apenas em 1963.⁷

Grupo 4: Δ^9 -THC, isolado pela primeira vez em 1942, mas a correta atribuição da estrutura, por Gaoni e Mechoulam, ocorreu em 1964.⁷

Grupo 5: Δ^8 -THC, representa uma das classes com menor quantidade de canabinóides atribuídos. O Δ^8 -THC é mais termoestável que Δ^9 -THC, seu principal isômero, sendo assim, o mesmo se acumula durante o aquecimento de Δ^9 -THC.^{27,43}

Grupo 6: CBL, chegou a ser considerado estruturalmente semelhante ao Δ^9 -THC, porém em 1967 foi renomeado para canabiciolol. A conversão do canabinóide CBC a CBL provocou nova revisão estrutural.^{7,27,43}

Grupo 7: CBE, relatado na literatura pela primeira vez em 1973 e o mesmo pode ser formado, também, a partir do ácido CBDA e CBD neutro.²⁷

Grupo 8: CBN, elucidado estruturalmente em 1940 e é considerado produto de degradação do Δ^9 -THC.⁷

Grupo 9: CBND e os demais canabinóides dessa classe são derivados do CBD. O primeiro composto dessa classe foi identificado em 1972.²⁷

Grupo 10: CBT, isolado pela primeira vez em 1966,⁴⁴ e sua estrutura determinada

em 1976.²⁷

Grupo 11: Nesse grupo, denominado “tipos diferentes”, não há uma estrutura ou canabinóide determinado como padrão. Mas estão presentes canabinóides que não se enquadram nos demais grupos, além de compostos canabinóides que apresentam a função orgânica cetona.⁷

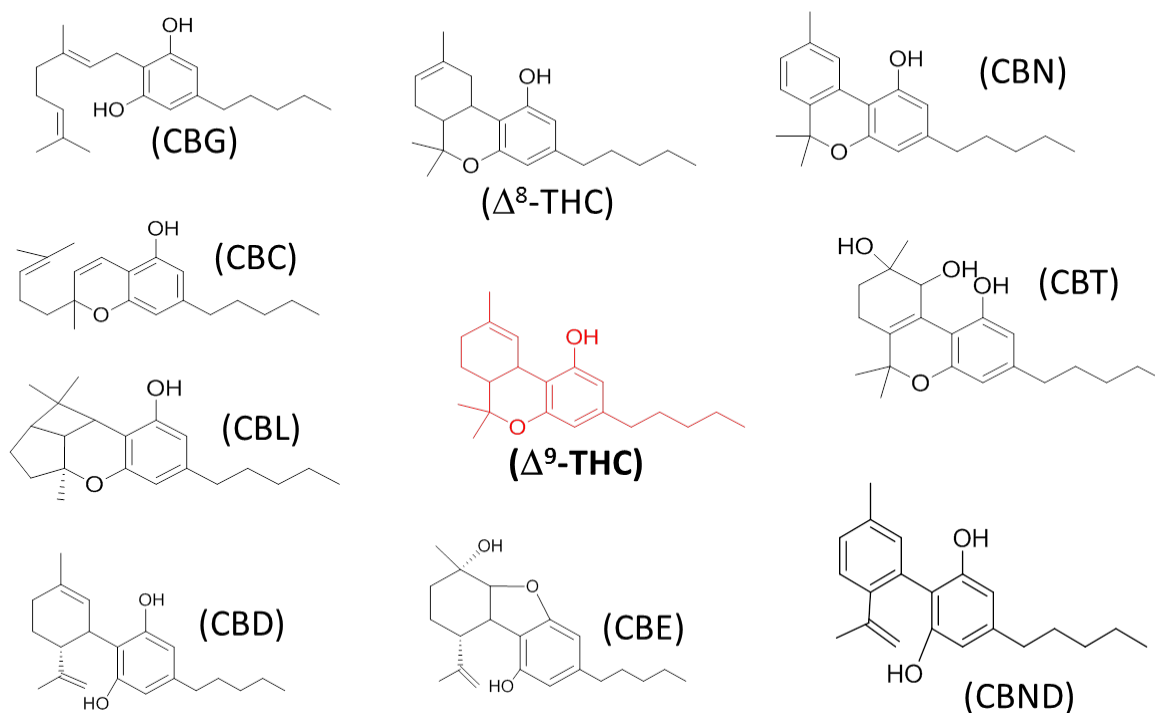


Figura 3. Dez canabinóides principais que representam os dez dos onze grupos da classe canabinóides.

Destacam-se como canabinóides mais abundantes em *Cannabis*:^{45,46} (a) **CBD** - fármaco anticonvulsivo testado em tratamentos de pacientes epiléticos,⁴⁷ além de ser ansiolítico, anti-inflamatório, antipsicótico, antiespasmódico e analgésico;³³ (b) **CBG** - possui atividades antiproliferativas e antiglaucoma,^{7,32,33} antibiótico, anti-inflamatório, antifúngico e analgésico;³³ (c) **CBN** - sedativo, anticonvulsivo e anti-inflamatório;^{8,33} (d) **CBC** - anti-inflamatório, antifúngico e analgésico³³ e (e) **Δ^9 -THC** - principal composto psicoativo da planta.^{8,41,48-50}

Como característica estrutural, grande parte dos canabinóides possuem 21 ou 22 átomos de carbono, com possíveis variações no comprimento de suas cadeias laterais (C_1 - C_5) unidas ao anel aromático. Nos homólogos mais comuns, a cadeia lateral de *n*-pentila é substituída por um *n*-propila, sendo esses análogos nomeados usando o sufixo "varin", como por exemplo: tetraidrocanabivarin (THCV), canabidivarin (CBDV) e canabinovarin (CBNV).⁴¹

Há também diversos isômeros encontrados em *Cannabis*, a exemplificar, os

canabinóides na **figura 4a**: CBND, CBN e canabifuran (CBF) com fórmula molecular $C_{21}H_{26}O_2$, *double bound equivalente* (DBE) 9 e *average molecular weight* (M_w) 310 Da; **figura 4b**: CBD, CBC, CBL, Δ^9 -*trans*-THC, Δ^9 -*cis*-THC e Δ^8 -THC fórmula molecular $C_{21}H_{30}O_2$, DBE 7, M_w 314 Da; e **figura 4c**: ácido canabidiólico (CBDA), ácido canabicromênico (CBCA), ácido canabiciclólico (CBLA), ácido Δ^9 -tetraidrocanabinólico A e B (Δ^9 -THCA A ou B) e ácido Δ^8 -tetraidrocanabinólico (Δ^8 -THCA) fórmula molecular $C_{22}H_{30}O_4$, DBE 8, M_w 358 Da.⁵¹

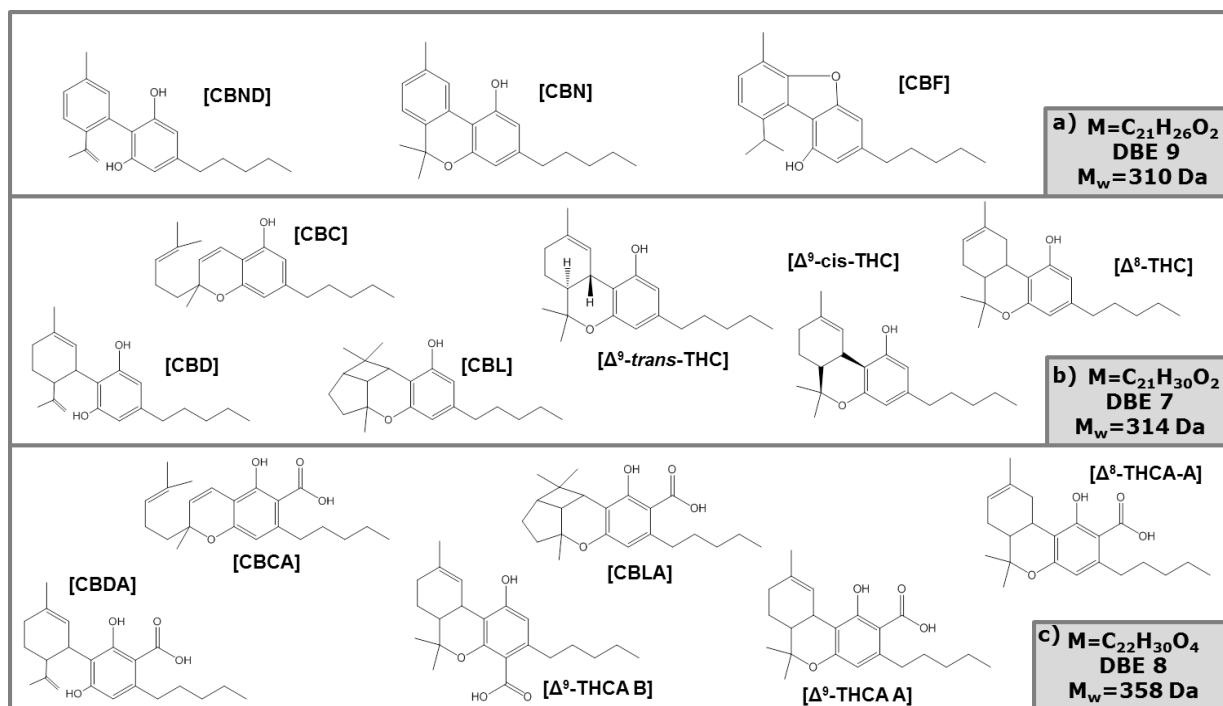


Figura 4. Canabinóides isômeros e suas fórmulas moleculares, DBE e massa exata: **(a)** $C_{21}H_{26}O_2$; **(b)** $C_{21}H_{30}O_2$; **(c)** $C_{22}H_{30}O_4$.

No material vegetal fresco de *Cannabis*, a maioria dos canabinóides que são produzidos pelo metabolismo da planta estão na forma de ácidos carboxílicos, tais como: Δ^9 -THCA A, CBDA e CBGA, que podem ser convertidos em seus análogos por descarboxilação, via perda do grupo $-COOH$ produzindo “canabinóides neutros” tais como: Δ^9 -THC, CBD e CBG.^{43,45,46}

As propriedades medicinais dos componentes da planta *Cannabis* foram debatidas dos pontos de vista científico e político, e o assunto ganhou muito interesse ao longo dos anos, especialmente após a descoberta, em 1964, do Δ^9 -THC, nomenclatura IUPAC: 6,6,9-trimetil-3-pentil-6h-dibenzo[b,d]piran-1-ol, **figura 3**, sua fórmula molecular é $C_{21}H_{30}O_2$, massa molar = 314 Da.^{49,52}

O teor do Δ^9 -THC nos produtos de *Cannabis* pode variar por causa da

proporção de diferentes partes da planta utilizadas na preparação dos mesmos.³³ Porém, esse teor (de Δ^9 -THC) pode ser classificado nas partes da planta de forma decrescente a partir da parte mais alta; flores, **figura 5a** (10 - 12%), folhas, **figura 5b**, (1 - 2 %) e em proporções muito menores nas partes mais baixas; caule, **figura 5c** (0,1 - 0,3%) e raiz, **figura 5d** (< 0,03%).⁵³

Nas sementes, **figura 5e**, a presença do Δ^9 -THC ainda é um tema discutível entre autores.^{7,29,33} Elsohly e colaboradores (2007) sugerem que a semente da *Cannabis* não está isenta do principal composto ativo, responsável pelos efeitos psicotrópicos da planta, mas que de acordo com a variedade da planta, sua concentração de Δ^9 -THC na semente pode ser inferior a 0,5 μ g/g.⁷ No entanto, a UNODC (2009) diz que não há Δ^9 -THC nas sementes, e é sustentada a ideia que quando detectado possivelmente seja por contato das mesmas com as brácteas e/ou flores da planta, que possuem alto teor desse canabinóide.³³

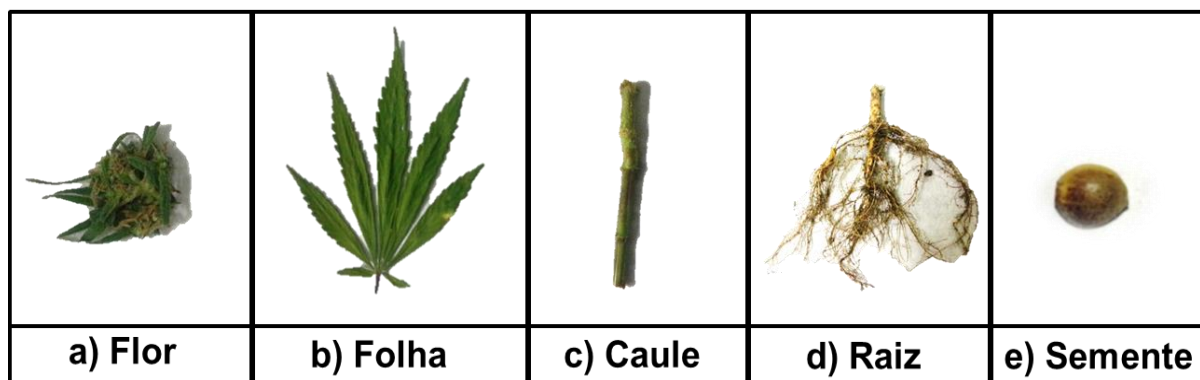


Figura 5. Partes da planta *Cannabis*; **a)** flor; **b)** folha; **c)** caule; **d)** raiz e **e)** semente

De forma geral, os canabinóides são rapidamente absorvidos por via inalatória quando fumados, proporcionando absorção de aproximadamente 20% do teor de Δ^9 -THC disponível.⁵⁴ A concentração máxima no cérebro é atingida em aproximadamente 15 minutos. Os efeitos psicoativos podem durar de 2 a 4 horas. A absorção de Δ^9 -THC no corpo é variável de acordo com cada metabolismo. Após serem inalados, os canabinóides são distribuídos no organismo atingindo, respectivamente; cérebro, pulmões, fígado, rins e ovários.⁵⁵

Quanto a biossíntese de compostos canabinóides, a mesma é exclusiva da planta *Cannabis*, e cultivares com perfis químicos específicos estão sendo desenvolvidos para diversos usos industriais, farmacêuticos e ilícitos.⁷

Portanto, o estudo da composição química da *Cannabis* e seus produtos é considerado relevante, principalmente nas análises forenses que se baseiam na

identificação dos perfis químicos, inclusive para rastrear possíveis rotas de tráfico.^{30,40,54-56} Porém, devido aos diversos fatores, além das características genéticas, que podem influenciar na composição química dos canabinóides na planta, a caracterização inequívoca dos compostos psicoativos é dificultada.⁵⁷

1.4 Legislação Brasileira

A maconha já foi considerada em diversos países, inclusive no Brasil, um medicamento utilizado para várias enfermidades até o início do século XX. Na mesma época, era também utilizada com fins abusivos por indivíduos interessados em sentir diferentes sensações. A proibição veio como consequência dessa utilização abusiva, não só no Brasil, mas em quase todo mundo.⁵⁸

O Decreto-Lei nº 891 de 1938, foi considerada a primeira proibição da maconha no país. Atualmente a planta *Cannabis sativa* L. é classificada como droga ilícita, proscrita pela Lei nº 11.343 de 23 de agosto de 2006. Essa lei vigora no Brasil desde 08 de outubro de 2006,^{29,34,59} onde o tráfico de drogas pode ser punido com 5 a 15 anos de prisão, e aos usuários, penas alternativas podem ser administradas, como a prestação de serviços comunitários.^{34,60}

No entanto, no ano de 2014, a Comissão de Constituição e Justiça (CCJ) do Senado, aprovou o Projeto de Lei Complementar - PLC 37/2013, que muda a Lei Antidrogas, permitindo a importação de derivados da maconha para uso medicinal, diante das suas comprovadas ações, tais como; anticonvulsivo e relaxante muscular em pacientes com quadros de epilepsia ou esclerose múltipla, diminuição da pressão intraocular no glaucoma, entre outros.⁶¹

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), retirou o canabinóide CBD da lista de substâncias proibidas no Brasil, passando a ser considerada substância controlada e enquadrada na lista C1 da portaria 344/98, que regula os controles e proibições de substâncias no país.^{61,62}

A RDC nº 17, de 6 de maio de 2015, definiu critérios e procedimentos para a importação, por pessoa física, de produtos à base de CBD em associação com outros canabinóides, para uso próprio, excepcionalmente mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde.⁶²

Ainda no ano de 2015, o Brasil teve a quarta maior população encarcerada do mundo, o que aponta para a necessidade de alternativas no combate à violência e ao crime, particularmente quando relacionadas ao consumo de drogas ilícitas.⁶³

Em 2016, a última atualização da portaria nº 344, em 18 de março de 2016, corresponde a RDC nº 66 que, atualizou as substâncias proscritas, além de fazer um adendo em cumprimento a decisão judicial proposta pelo Ministério Público Federal, que permite, exclusivamente para uso e tratamento de saúde, a prescrição médica e também a importação, por pessoa física, de produtos farmacêuticos que contenham as substâncias CBD e Δ^9 -THC em sua formulação.⁶⁴

1.5 Técnicas para identificação de canabinóides

Apesar da proibição do uso em diversos países, segundo o Relatório Mundial de Drogas (WDR, *World Drug Report*) de 2017 da Organização das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes (UNODC, *United Nations Office on Drugs and Crime*), a maconha continua sendo a droga mundialmente mais utilizada.⁶

E ainda que existam avanços notórios na área medicinal, a maconha continua sendo amplamente consumida para fins abusivos.^{43,47,65-67}

Além disso, métodos de produção da *Cannabis* tem sido aperfeiçoados com o passar dos anos, resultando em metodologias cada vez mais sofisticadas e gerando uma maior variedade de produtos, com variadas concentrações do Δ^9 -THC, disponíveis nos mercados ilícitos.³³

Sendo assim, torna-se necessário o desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas para fins de identificação, quantificação e rastreio das substâncias ditas proscritas por lei.

1.5.1 Teste colorimétrico

No Brasil, um dos testes realizados pela polícia forense, especificamente para amostras de maconha, é o *Fast Blue BB* ou *B Salt*. A sua reação colorimétrica é atribuída à natureza fenólica das estruturas químicas dos canabinóides, e por esse motivo lhe faltaria especificidade, visto que demais compostos presentes nos vegetais podem apresentar tal característica.⁶⁸

A reação colorimétrica ocorre em meio alcalino, onde o sal B ou BB reage com os canabinóides extraídos da planta *Cannabis*, formando uma nova molécula que resulta em uma cor avermelhada, que é a combinação de cores específicas dos três canabinóides que reagem com o sal revelador, são elas; o Δ^9 -THC que apresenta coloração vermelha, o CBN coloração púrpura e o CBD laranja.^{49,68}

Esse teste porém, necessita de comprovações a partir de técnicas analíticas

instrumentais mais específicas, como por exemplo a técnica de espectrometria de massas, do inglês: *Mass Spectrometry* – MS, para validação do seu resultado,⁴⁹ isso porque apenas o teste colorimétrico não produz resultado conclusivo sobre a presença da droga na amostra ensaiada.¹¹

1.5.2 Espectrometria de Massas

A MS é uma técnica multidisciplinar que consiste na ionização das moléculas de interesse, e separação dos íons com base em suas diferentes razões massa/carga, m/z , que possibilita detectar, contar e caracterizar átomos e moléculas variadas, com diferentes composições e tamanhos.^{69,70}

Os espectrômetros de massas constituem-se basicamente de (**figura 6**): um sistema de introdução de amostra, uma fonte de ionização, um analisador de massas, e um detector, que realiza a “contagem” dos íons e que também transforma o sinal em corrente elétrica, que posteriormente, de acordo com a magnitude do mesmo, proporciona um espectro de massas correspondente.¹⁶

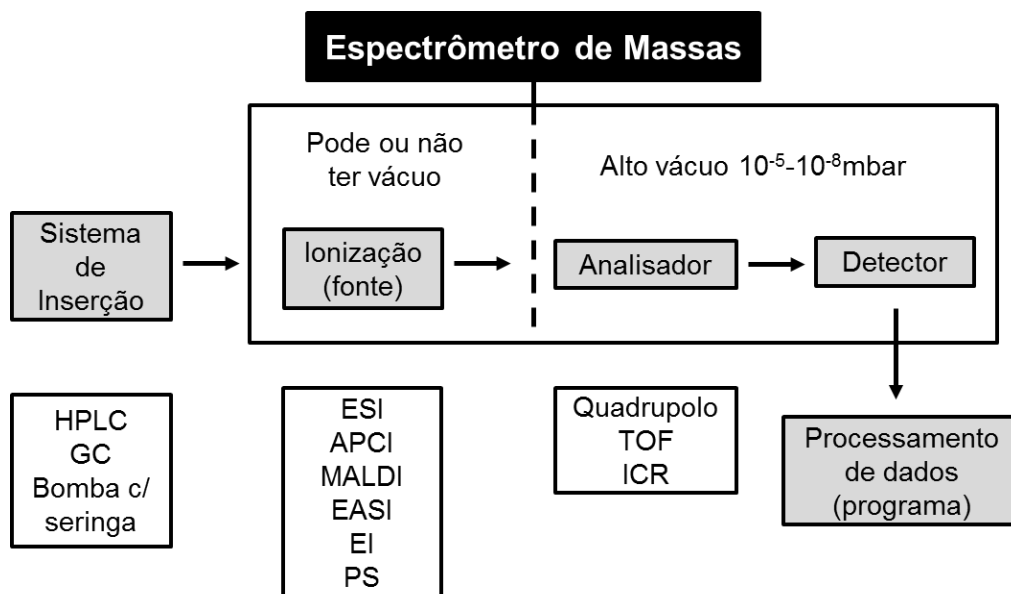


Figura 6. Diagrama esquemático de um espectrômetro de massas.¹⁶

A MS já foi uma técnica rara em investigações forenses, pois inicialmente era limitada à análise de moléculas relativamente pequenas, voláteis e preferencialmente puras, com o passar dos anos, tornou-se possível analisar diferentes matrizes devido ao desenvolvimento de novas fontes de ionização.⁷¹

Especialmente em relação ao método de ionização por *electrospray ionization* (ESI), a solução é nebulizada para a formação de uma pulverização de gotículas.

Em seguida, o solvente é então evaporado e os íons moleculares em fase gasosa são gerados em pressão atmosférica e conduzidos ao analisador de massas.⁷² Essa fonte de ionização é aplicável a desde pequenas espécies inorgânicas ou orgânicas até macromoléculas como polímeros, ácidos nucleicos e proteínas.⁷³

Nascimento e colaboradores, em 2016, identificaram 21 espécies de canabinóides, em amostras apreendidas pela polícia, a partir do equipamento espectrômetro de massa de ressonância ciclôtrônica de íons com transformada de Fourier, do inglês: *Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*, FT-ICR MS, fonte ESI, no modo negativo, que demonstrou melhores resultados comparado ao modo positivo de ionização. Além disso, demais substâncias foram detectadas nas regiões de m/z 600-800 e 800-1000, que correspondiam a dímeros e trímeros de canabinóides.⁷⁴

Em 2017, Borille *et al.* a partir de 68 amostras de sementes de *Cannabis* apreendidas pela polícia federal brasileira, que foram germinadas, plantadas e cultivadas sob condições controladas, estudaram sua composição química também por ESI(±)FT-ICR MS, em ambos modos de ionização, considerando distintos períodos de crescimento da *Cannabis*. Nesse estudo, o perfil químico no modo de ionização positivo permitiu a identificação de 123 substâncias como canabinóides ou metabólitos e 8 não canabinóides.⁵⁰

No entanto, em ambos trabalhos uma limitação na identificação dos canabinóides por infusão direta, como ESI(±), independente do modo de ionização, foi a distinção dos canabinóides isômericos, que possuem mesma massa exata e fórmula molecular. Portanto uma etapa anterior de separação, como a cromatografia, pode ser acoplada para o estudo de matrizes complexas, a exemplificar; a planta *Cannabis* e seu produtos; haxixe, maconha e partes da planta.

1.5.3 Cromatografia Gasosa

A cromatografia é um método físico-químico de separação de compostos de determinada matriz, realizada através da distribuição dos mesmos em duas fases; móvel (FM) e estacionária (FE).^{75,76}

A amostra, por meio de um sistema de injeção, é introduzida em uma coluna contendo a fase estacionária. Tanto a temperatura durante a injeção da amostra, como também na coluna, possibilitam a vaporização destas substâncias que, de acordo com suas propriedades e as da fase estacionária, são retidas por tempos

determinados e chegam à saída da coluna em tempos distintos. O uso de um detector adequado na saída da coluna torna possível a identificação e quantificação destas substâncias.⁷⁵

O acoplamento da cromatografia gasosa ao espectrômetro de massas, do inglês: *Gas Chromatography – Mass Spectrometry*, GC-MS, une a habilidade de separação, identificação e quantificação de espécies químicas da cromatografia com o alto poder de resolução, seletividade e sensibilidade na detecção de massa do espectrômetro,^{77,78} permitindo assim a identificação de quase todos os compostos presentes em uma amostra. Este sistema consiste basicamente em um cromatógrafo (com coluna capilar), uma interface que liga os dois sistemas, uma câmara (fonte) de ionização, um analisador de massas mantido sob vácuo e um sistema de detecção acoplado a um sistema de registro de dados,^{75,76,79} como ilustrado na **figura 7**.⁷⁶

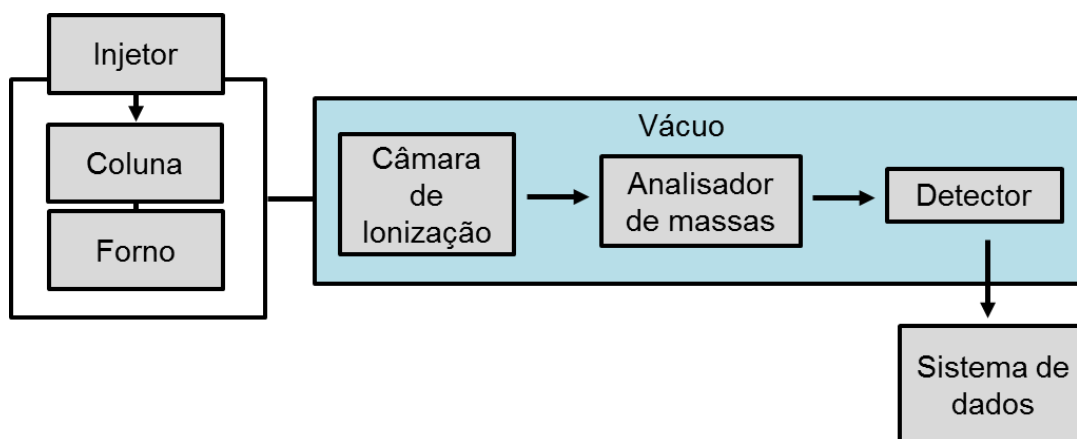


Figura 7. Diagrama esquemático do GC-MS.⁷⁶

Métodos de GC-MS são rotineiramente utilizados para identificações qualitativas de compostos desconhecidos e quantificações precisas dos mesmos, inclusive dos canabinóides.^{77,78}

Em 2016, Mariotti e colaboradores, após a compreensão de uma recente forma de tráfico internacional de drogas no Brasil, a partir do envio de sementes de *Cannabis* aos centros urbanos por meio de logística postal, realizaram estudo com 50 sementes de *Cannabis* de diferentes variedades, apreendidas pela polícia federal brasileira. Essas sementes foram cultivadas em estufas com condições pré-definidas durante um período de 4,5; 5,5; 7,5; 10 e 12 semanas e posteriormente analisadas por GC-MS associada à análise exploratória e discriminante. Entre os canabinóides detectados; CBG, CBN, CBD, CBC e Δ^9 -THC, os isômeros CBC e CBD, foram

identificado com mesmo tempo de retenção cromatográfico, separando-os apenas do isômero Δ^9 -THC, com tempo de retenção distinto.⁸

Essas informações corroboram que devido à composição complexa do material vegetal, a análise dos principais canabinóides não é facilmente alcançada e ocorre, em alguns casos, a sobreposição de picos.³⁸

A cromatografia a gás bidimensional abrangente, do inglês: *Comprehensive Two Dimensional Gas Chromatography*, GCxGC, porém, oferece algumas vantagens em comparação à cromatografia monodimensional clássica, como o aumento do sinal (maior relação sinal/ruído) e maior capacidade de separação, possibilitando a detecção de compostos que por meio da técnica GC-MS, por dificuldade na separação, não são identificados.⁸⁰ Trata-se de uma técnica inovadora, apresentada por Liu e Phillips no início da década de noventa.⁸¹

O sistema bidimensional é caracterizado pela utilização sequencial de duas colunas cromatográficas, com fases estacionárias distintas, sendo uma convencional e a outra curta, onde os analitos proveniente da primeira coluna são direcionados à segunda através de um modulador, melhorando a separação obtida inicialmente.^{82,83,84}

Usualmente, a separação em GCxGC é ortogonal e utiliza primeiro uma coluna apolar (¹D), primeira dimensão, e, sequencialmente uma coluna polar ou porlaridade média na segunda dimensão (²D). Convencionalmente, no processo de separação na ¹D, se dá por diferença nos pontos de ebulição dos analitos, enquanto na ²D, por diferença de polaridade.⁸⁴

No entanto, apesar da cromatografia gasosa ser uma das técnicas mais utilizadas no estudo do perfil químico de *Cannabis* e seus produtos, baseia-se no aquecimento da amostra, não permitindo a determinação de canabinóides ácidos devido à descarboxilação que resulta na identificação de seus compostos neutros durante a análise. Além disso, a conversão térmica dos canabinóides ácidos a neutros pode ser incompleta.³⁸ Sendo necessário, etapa anterior de preparo, como derivatização para prevenir a descarboxilação dos ácidos precursores, que são abundantes, em sua maioria, em plantas de *Cannabis* fresca.⁸⁵

1.5.4 Cromatografia Líquida

Outro método cromatográfico, no entanto que permite a determinação tanto das formas neutras como dos ácidos precursores dos canabinóides, uma vez que não ocorre aquecimento durante a etapa de separação, é a cromatografia líquida, do inglês: *Liquid Chromatography*, LC.⁸⁶⁻⁸⁹

A fase estacionária é composta por coluna empacotada (recheada) e como fase móvel, utiliza-se solventes líquidos eluídos sob altas pressões. Esta técnica se destaca pois consegue separar misturas com grande número de variados compostos distintos e até mesmo similares, com alta eficiência.^{75,79,90}

Quando a fase estacionária é constituída de grupos apolares como por exemplo; octil ($-C_8H_{17}$), octadecil ($-C_{18}H_{37}$), fenil ($-C_6H_5$), metil ($-CH_3$), etc., denomina-se cromatografia em fase reversa, que é mais comumente empregada. É comum referir-se às colunas mais utilizadas como sendo tipos C8 e C18.⁹⁰

No estudo de canabinóides e seus metabólitos em fluídos biológicos como urina, sangue e saliva, a cromatografia líquida tem sido amplamente utilizada.^{38,86-89,91}

Além disso, especialmente nos últimos anos, a cromatografia líquida tem sido combinada à espectrometria de mobilidade iônica, do inglês: *Ion-mobility spectrometry* – IMS, que também pode ser acoplada a espectrometria de massas (IMMS), e utilizada na área de metabolômica, possibilitando o aumento no grau de separação e distinção entre picos, resultando em espectros de massas mais limpos e com resolução suficiente para resolver isóbaros e isômeros estruturais.^{92,93}

1.5.5 Mobilidade Iônica

A IMS surgiu na década de 70, como uma técnica de separação de íons em fase gasosa e por isso, era inicialmente denominada “cromatografia de plasma”.^{94,95}

Tornou-se mais comumente vista como uma técnica para detecção seletiva de compostos orgânicos.⁹⁶ Apresentando rapidez nas separações, na ordem de milissegundos, adequação para monitoramentos em tempo real e baixo custo, e logo encontrou aplicação nos campos militar e de segurança para análise de traços de vapores orgânicos, especialmente compostos como explosivos, drogas e também agentes de guerra química.⁹⁴ Apesar disso, a IMS sofreu uma falta de interesse no período dos anos 70 e 80 que foram associadas a possíveis mal entendidos gerados

por comparações errôneas com a espectrometria de massas, concluindo, na época, que a IMS era uma tecnologia interessante mas não prática.⁹⁶

Porém, anos mais tarde, uma variedade de modificações no *design* dos instrumentos renovou o interesse em utilizar IMS, resultando em equipamentos de melhor resolução e na sua adequação para o uso numa vasta gama de aplicações.⁹⁷

Entre essas modificações está o desenvolvimento da ionização por eletrospray (ESI).⁹⁷

A IMS quando acoplada à MS, torna-se uma ferramenta analítica poderosa para a investigação de estrutura molecular e separação de amostras complexas.⁹³ Enquanto que a MS mede primariamente a razão massa carga dos íons, a IMS adiciona uma nova dimensão aos dados conferindo para cada valor de m/z um espectro de *drift time*.⁹⁴

Na IMS, os íons, gerados em etapa anterior, atravessam a cela de mobilidade com um fluxo de gás contracorrente, do qual a principal função é atrasá-los durante o percurso, resultando em um maior atraso dos íons maiores em relação aos menores, ocorrendo assim a separação de acordo com o tamanho da molécula. Isso implica que a velocidade com que cada diferente íon atravessa sob um campo elétrico com um gás neutro contra-corrente varia de acordo com a sua mobilidade iônica, sendo característica para cada íon e relativo à demais fatores como massa, carga e secção transversal de interação entre o íon e o gás neutro.^{94,98,99}

Portanto, os íons com maior mobilidade possuem uma velocidade de fluxo maior e chegam mais rapidamente ao analisador. Cada grupo de íon separado chega ao analisador de massas em tempos diferentes resultando em um pico no espectro de mobilidade, **figura 8**.

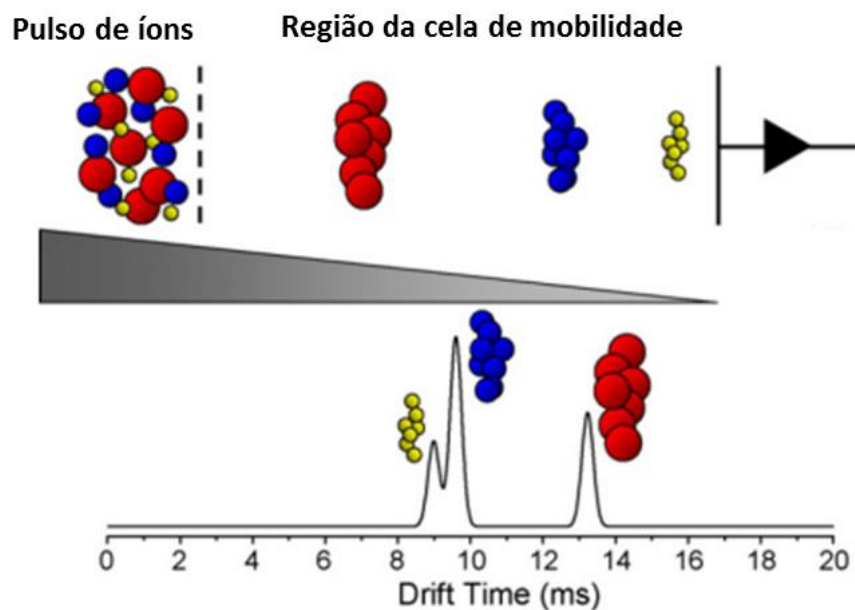


Figura 8. Esquema demonstrativo do princípio básico da separação por mobilidade iônica.⁹⁸

Os equipamentos de IMMS tem sofrido um satisfatório desenvolvimento, com aumento da sensibilidade e velocidade das aquisições de espectro de massas. Um desses avanços baseia-se na utilização de gradiente de voltagem no lugar de voltagem fixa na cela de mobilidade. Nessa técnica, denominada *travelling wave ion mobility* (TWIM), a sensibilidade do espectrômetro de massas não é afetada pelo ciclo de trabalho como ocorre com as técnicas de IMS convencionais.⁹²

Na técnica TWIM uma sequência de ondas de potenciais simétricos propagando continuamente através da cela de mobilidade impulsiona os íons com velocidade dependente de suas mobilidades, e as espécies diferentes transitam pela cela em tempos distintos. A fim de formar essas ondas de potenciais, a cela de mobilidade é composta por uma série de eletrodos planares dispostos ortogonalmente ao eixo de transmissão dos íons, e em cada eletrodo é aplicada uma radiofrequência (RF) de fase oposta daquela aplicada aos seus eletrodos adjacentes, para “passar” os íons através da cela. Dessa maneira, forma-se uma onda de campo elétrico, denominada *travelling wave*.⁹⁴

Em 2014, Armenta e colaboradores, identificaram, a partir de TWIM-MS, novas substâncias psicoativas, dos grupos fenetilaminas, catinonas, canabinóides sintéticos, triptaminas entre outros compostos.¹⁰⁰

Tose e colaboradores, em 2017, analisaram produtos de *Cannabis*: haxixe e maconha, e também partes da planta: flor e folha, a partir da cromatografia líquida de ultra performance acoplado a espectrometria de massas de mobilidade iônica (UPLC-TWIM-MS) para diferenciar os principais isômeros dos canabinóides Δ^9 -THC, CBN, Δ^9 -THCA A e B, presentes na planta *Cannabis*, usando a técnica de infusão direta ESI-TWIM-MS, enquanto uma maior seletividade foi observada nos dados UPLC-ESI-TWIM-MS, com a separação isomérica máxima entre quatro e cinco compostos ao usar a aquisição de modo de íon único, do inglês, *single-ion mode*, SIM. Este foi o primeiro estudo utilizando o equipamento TWIM-MS com finalidade de separação de canabinóides isoméricos detectados em partes da planta *Cannabis*, além dos seus produtos; maconha e haxixe, porém com ausência de padrões de referência (padrões isoméricos).⁵¹

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Realizar estudos analíticos de sete padrões de canabinóides (cinco neutros: Δ^9 -THC, CBD, CBC, CBN e CBG e dois ácidos: Δ^9 -THCA A e CBDA), além de produtos de *Cannabis* (haxixe e maconha) e partes da planta (flor e folha), a partir de técnicas cromatográficas, mono e bidimensional acopladas a espectrômetro de massas, e cromatografia líquida de alta performance combinada a espectrometria de mobilidade iônica, GC-MS, GCxGC-qMS e UPLC-TWIM-MS, respectivamente.

2.2 Específico

- Determinar a presença de isômeros constitucionais nas amostras de maconha, haxixe e a partes da planta; flor e folha de *Cannabis sativa* L.;
- Realizar experimentos de *collision-induced dissociation* (CID) nos isômeros constitucionais de m/z 315 (Δ^9 -THC, CBD, CBC) e m/z 357 (Δ^9 -THCA A e CBDA);
- Comparar a eficiência da identificação de canabinóides isoméricos a partir de técnicas cromatográficas clássicas acopladas a espectrometria de massas e mobilidade iônica.

3. METODOLOGIA

3.1 Amostras e Reagentes

3.1.1 Padrões Isoméricos de canabinóides

Os padrões certificados de canabinóides comercialmente obtidos (Cerilliant®, Round Rock, TX, EUA) nas concentrações de 1mg mL⁻¹: Δ^9 -THC, CBD, CBC, CBN, CBG, Δ^9 -THCA A e CBDA, foram dissolvidos em metanol (canabinóides neutros) e acetonitrila (canabinóides ácidos), grau de pureza analítica superior a 99,5%, Vetec® Química Fina Ltda, Brasil. Os padrões foram mantidos a 8°C até o momento das análises.

3.1.2 *Cannabis* e seus produtos

Cerca de 10 mg de produtos de *Cannabis* (maconha, haxixe e partes da planta; flor e folha) foram extraídas com metanol (grau de pureza analítica superior a 99,5%, Vetec® Química Fina Ltda, Brasil). Todas as amostras foram apreendidas no estado do Espírito Santo e fornecidas pela Polícia Civil do ES, por meio do acordo de cooperação, processo 23068.011398/2012-72.

3.2 GC-MS

Os padrões de: Δ^9 -THC, CBD, CBC, CBN e CBG (Cerilliant®, Round Rock, TX, EUA) foram analisados individualmente por GC-MS, a partir do cromatógrafo Agilent Technologies, modelo 7890B, equipado com detector de massa modelo 5977A. Os parâmetros do equipamento são: i) coluna DB5-MS (30 m x 0,25 mm) 0,25 μ m (5% de difenil - 95% de dimetilpolisiloxano; ii) O hélio foi utilizado como gás de arraste; iii) vazão/fluxo constante de 1 mL / min; iv) injetor com divisor (*Split*) a 280°C; v) razão de divisão de fluxo: 10:1; vi) volume de injeção: 1 μ L; vii) temperatura inicial do forno: 80°C, mantida constante por 2 minutos, após rampa de aquecimento de 10 °C/min, alcance de 290°C e mantendo-se constante por 5 min (tempo total da análise 28 minutos); viii) temperatura do detector de massas: 290°C e ix) operando em modo de varredura completo em uma faixa de *m/z* 50-400.

Para a análise de padrões, foram coletados 7 μ L da solução reserva e o solvente foi evaporado. Depois, adicionou-se 80 μ L de diclorometano de grau de pureza analítica superior a 99,5%, da Vetec® Química Fina Ltda, Brasil.

3.3 GCxGC-qMS

O sistema GCxGC-qMS (GCMS QP 2010 Shimadzu *ULTRA system*) contém um auto amostrador AOC-5000 *Plus* equipado com um modulador ZX1-GCxGC (Zoex, Houston, TX, EUA). O modulador utiliza um sistema de jato simples de nitrogênio. A separação cromatográfica na primeira dimensão foi realizada em coluna apolar, DB-5, 5% fenil, 95% polimetilsiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m, J & W Scientific, Agilent Technologies, EUA). Na segunda dimensão foi usada uma coluna polar DB-17, 50% fenil e 50% metil-polisiloxana (1,8 m x 0,1 mm x 0,1 μ m, J & W Scientific, Agilent Technologies, EUA). O programa de temperatura do forno começa em 80°C por 5 minutos sendo aquecido a uma taxa de 7°C/min até 300°C, mantido em isotérmica durante 10 min. A temperatura do injetor foi mantida à 280°C no modo *splitless* e 1 μ L foi injetado. Hélio foi utilizado como gás carreador, com vazão de 1 mL min⁻¹ e a temperatura de interface e fonte de íons foi mantida em 300°C. A faixa de aquisição utilizada foi de 50 a 550 Da, e o processamento realizado pelo *software* GC Image (ZOEX Corporation, Houston, Texas, EUA), utilizando a biblioteca NIST05 para identificação dos compostos.

3.4 UPLC-ESI(±)TWIM-MS e ESI(±)MS/MS

Três isômeros de $M_w = 314$ Da (Δ^9 -THC, CBD, e CBC) e dois contendo o $M_w=358$ Da (Δ^9 -THCA A e CBDA) foram inicialmente analisados por um sistema cromatográfico composto por um UPLC-I *Class* (Waters Acquity - Waters, Milford, MA, USA) acoplado ao espectrômetro de massas TWIM-MS, Synapt G2-S HDMS (espectrômetro de massas de alta definição, Manchester, UK). Posteriormente, amostras de haxixe, partes da planta de *Cannabis* e maconha foram submetidas às análises usando o sistema UPLC-MS, e UPLC-TWIM-MS no modo de aquisição de íons *full scan* e *extracted ion chromatograms* (XIC).

Os experimentos de ESI(±)MS/MS foram realizados, utilizando energia de colisão de 15–30% para os íons de m/z 315 (padrões de CBD, CBC e Δ^9 -THC) e m/z 357 (padrões de Δ^9 -THCAA e CBDA).

O Synapt G2-S HDMS possui a geometria híbrida, compreendendo analisadores quadrupolares e de tempo de voo (Q-TOF). A eluição cromatográfica foi em solvente binário, razão A/B (fase A=água/ácido fórmico 0.1% v/v; fase

B=metanol/ácido fórmico 0.1% v/v). A vazão foi $0,50 \mu\text{L min}^{-1}$. As condições de análise foram: 10% fase B em 0 min; 60% fase B em 8 min; 95% fase B em 10 min; 95% fase B em 12 min; e após 2 min, a análise retornou à condição inicial. O analisador TOF foi operado com poder de resolução de $m/\Delta m 50\% = 45000$, e calibrado com NaTFA 0.1% em acetonitrila/água 1:1 (v/v %) num alcance de m/z 100-700. A cela de transferência e acumulação de íons foi operada a pressão de 10^{-2} mbar de argônio. Nos experimentos de mobilidade e separação de íons foi usado gás N_2 . A aquisição e processamento de dados foram no *software Mass Lynx 4.1 (Waters Corporation)*. Os parâmetros da fonte ESI e da célula de mobilidade iônica são: (i) voltagem do capilar: 2,5 – 3,5 kV; ii) temperatura da fonte: 90°C ; iii) voltagem do cone: 40-50 V; iv) fluxo do gás de dessolvatação (N_2): 500Lh^{-1} ; v) taxa de acumulação: $0,1 \text{ s scan}^{-1}$; vi) *traveling wave height*: 29,0-40,0 V; vii) *traveling wave speed*: $650\text{-}652 \text{ m s}^{-1}$; e viii) pressão do nitrogênio (*drift gas*): 2,90 mbar.⁵¹

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 GC-MS

Os cromatogramas dos padrões de Δ^9 -THC, CBD, CBC, CBN e CBG, bem como seus respectivos espectros de EI-MS são mostrados na **figura 9a-e** e **10a-e**, respectivamente, no qual tempos de retenção próximos ($\Delta t=1,303$ min) são observados. Em todos os casos, os picos resultantes foram bem definidos e a ordem de eluição semelhante ao reportado por outros autores na literatura, isto é, CBD < CBC < Δ^9 -THC < CBG e CBN.^{8,101}

Em geral, a similaridade com a biblioteca NIST variou de 45 a 98%, **tabela 2**. Vale destacar que, com exceção do CBG ($M_w=316$ Da) e do CBN ($M_w=310$ Da), os outros três canabinóides são isômeros constitucionais ($M_w=314$ Da).

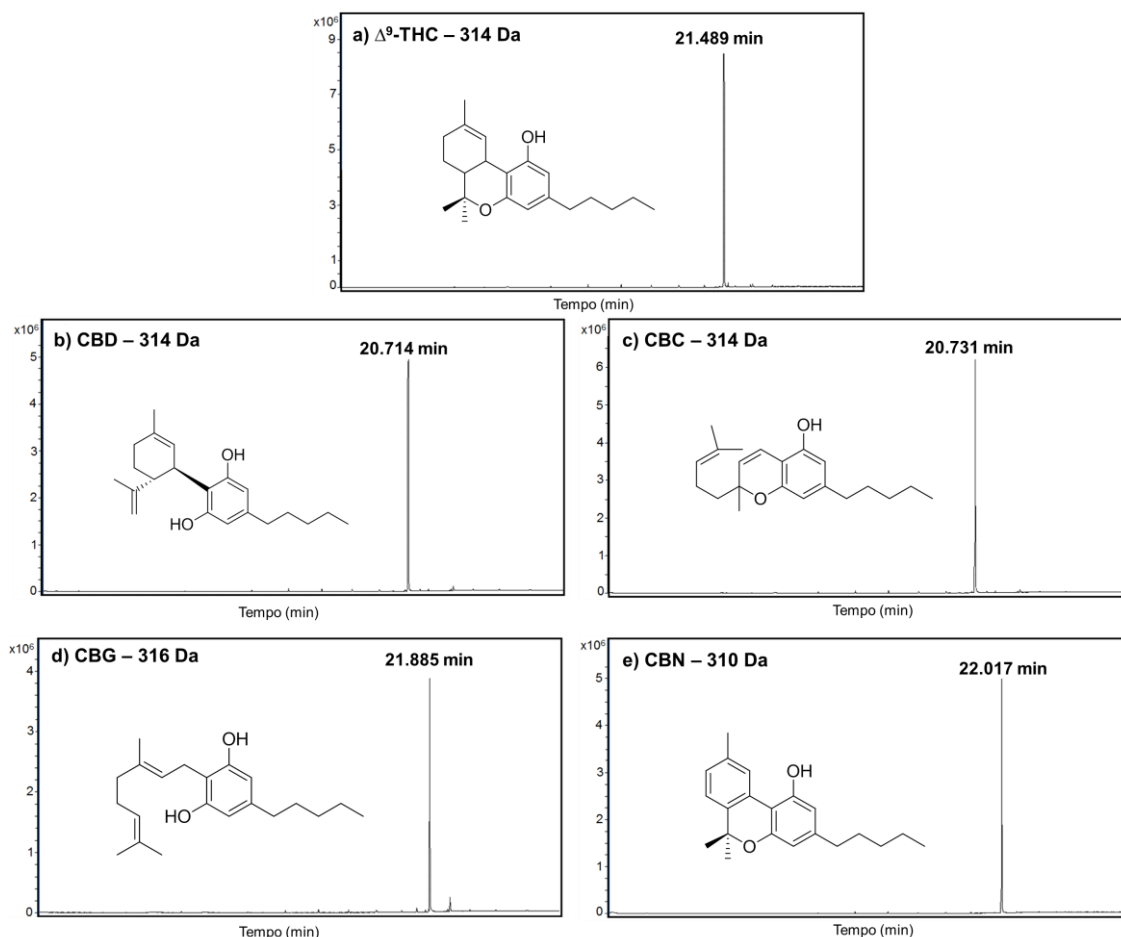


Figura 9. Perfil cromatográfico para os padrões de (a) Δ^9 -THC; (b) CBD; (c) CBC; (d) CBG e (e) CBN.

Tabela 2. Tempo de retenção em minutos e similaridade a partir da biblioteca NIST dos cinco padrões de canabinóides analisados

Padrão de canabinóide	Tempo de retenção (min)	Biblioteca NIST (%)
CBD	20,714	45,0
CBC	20,731	62,1
Δ^9 -THC	21,489	91,7
CBG	21,885	97,6
CBN	22,017	98,0

Quanto ao perfil de fragmentação entre os isômeros de $M_w=314$ Da, o espectro de EI-MS do Δ^9 -THC, **figura 10a**, é inequívoco, se diferenciando das moléculas de CBD e CBC, **figura 10b-c**, mesmo o CBD apresentando similar conectividade química ao Δ^9 -THC. Por outro lado, os isômeros CBD e CBC, embora apresentem uma maior diferença de conectividade entre seus átomos, **figura 9b-c**, possuem um similar espectro de fragmentação (m/z 299, 271, 258, 243 e 231), contendo o pico base de m/z 231. Além disso, eles possuem um tempo de eluição bastante próximo, com diferença de 0,017 min. Mariotti *et al.* usando um GC-MS, reportaram um similar tempo de retenção entre os canabinóides CBD e CBC.⁸

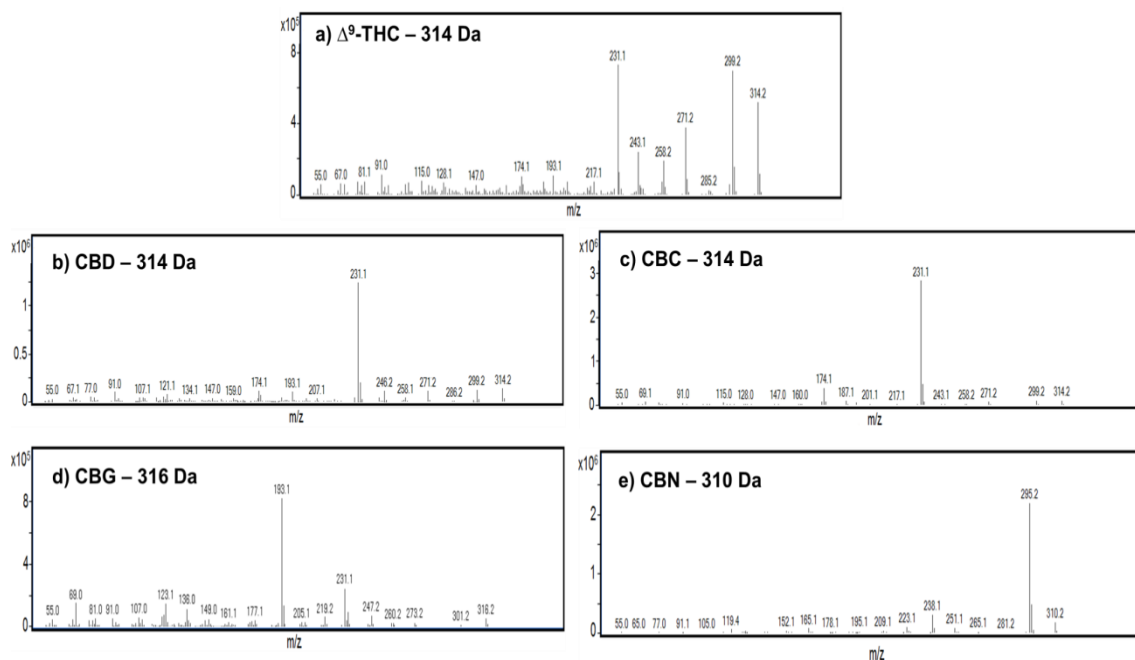


Figura 10. Perfil de fragmentação, EI-MS, dos cinco padrões neutros analisados: **(a)** Δ^9 -THC; **(b)** CBD; **(c)** CBC; **(d)** CBG e **(e)** CBN.

O tempo de retenção próximo observado entre os canabinóides nas análises de GC-MS pode estar relacionado ao tipo de fase estacionária empregada, coluna DB5-MS (5% difenil – 95% dimetilpolisiloxano), no qual, é classificada como uma coluna de caráter apolar, proporcionando assim, uma menor interação com os

analitos. Caso, uma coluna de maior polaridade fosse utilizada, uma melhor separação deveria ser esperada principalmente entre os isômeros constitucionais CBD e CBC, onde por caráter de polaridade, o último teria menor tempo de retenção.

Em geral, compostos aromáticos podem formar interação intermolecular do tipo π -stacking (empilhamento dos anéis da cadeia) resultando em uma maior interação molecular e portanto maior ponto de ebulição e tempo de retenção. Como pode ser observado relacionado ao CBN, **figura 9e**, que possui DBE 9, sistema tri-cíclico e bi-aromático, possuindo portanto maior ponto de ebulição e tempo de retenção comparados aos demais canabinóides analisados.

4.2 GCxGC-qMS

A cromatografia bidimensional proporciona um aumento da relação sinal-ruído e uma melhor resolução cromatográfica em relação ao sistema de separação unidimensional.⁸⁰

Dessa forma, utilizou-se a técnica GCxGC-qMS na análise de três amostras apreendidas pela PC-ES (haxixe, flor e folha), onde seus respectivos cromatogramas são mostrados nas **figura 11a-c**.

No total, 11 canabinóides (Δ^8 -THC, Δ^9 -THCV, CBD, CBV, CBC, CBL, CBCR, Δ^9 -THC, CBG, CBN e 8Δ -OH- Δ^9 -THC) foram identificados na amostra de haxixe, **figura 11a**, enquanto que menor quantidade de compostos foram observados nas amostras de flor e folha (9 e 7 canabinóides, respectivamente, **figura 11b-c**). Os canabinóides Δ^9 -THC e CBN se destacam por serem as espécies mais abundantes.

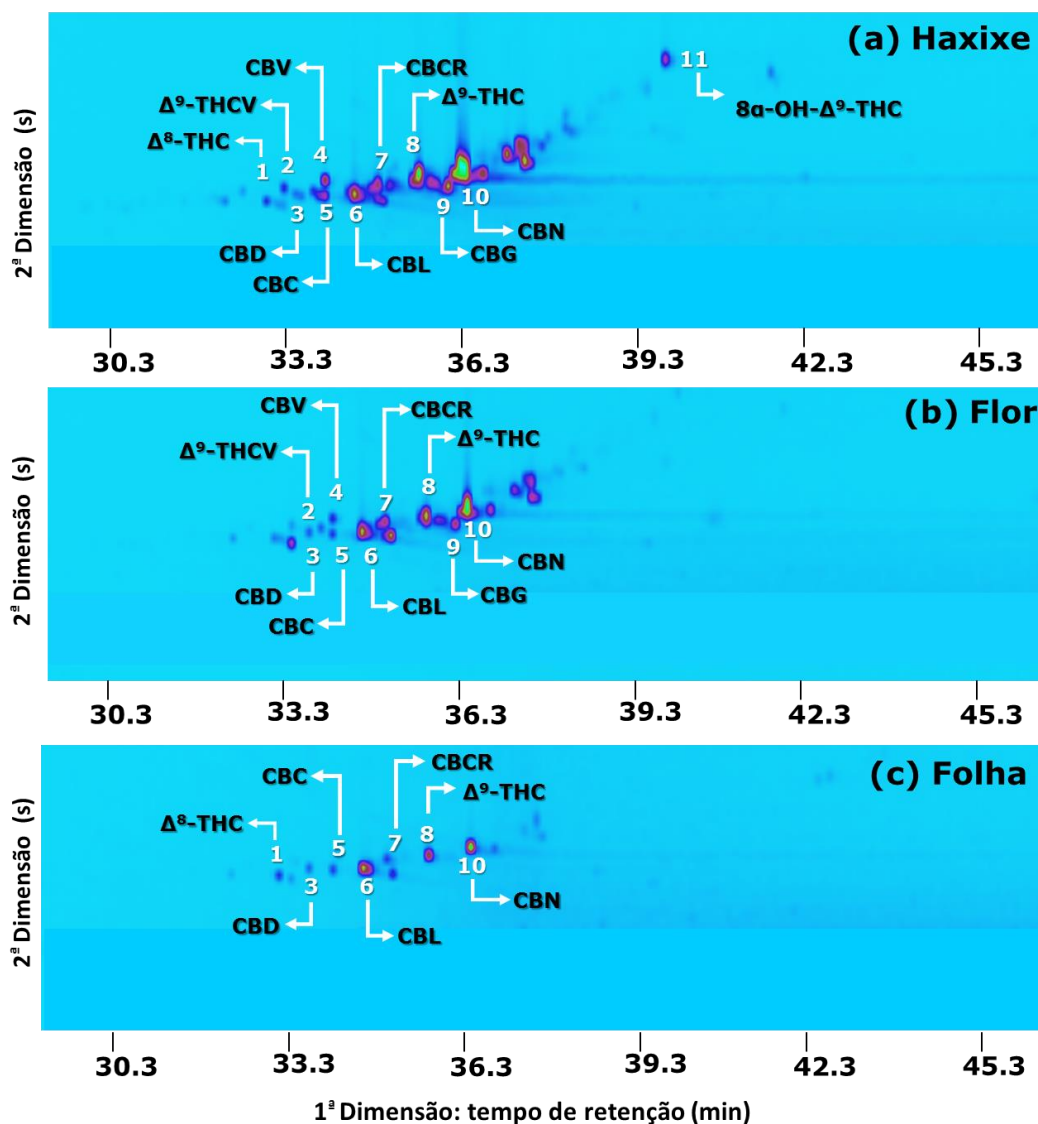


Figura 11. Cromatogramas obtidos a partir de GC×GC-qMS na análise de: **(a)** haxixe; **(b)** flor e **(c)** folha.

Entre os canabinóides detectados, as moléculas Δ^8 -THC, CBD, CBC, e CBL se destacam por serem isômeros constitucionais do Δ^9 -THC ($M_w = 314$ Da); apresentando a seguinte ordem de eluição: Δ^8 -THC < CBD < CBC < CBL < Δ^9 -THC.

A flor da *Cannabis* é considerada a região da planta que concentra um alto teor de Δ^9 -THC, que é o principal composto psicoativo em *Cannabis*.^{27,30} De maneira similar, as amostras de haxixe, que são produzidas a partir das secreções resinosas da planta, podem ser associadas às estruturas florais.²⁷

Além dos canabinóides, essas amostras podem concentrar uma grande variedade de terpenos, açúcares e flavonóides, tipicamente presentes nas plantas de *Cannabis*^{8,30} que a faz ser caracterizada como uma matriz complexa,²⁵

justificando assim a grande quantidade de picos nos cromatogramas obtidos.

No material vegetal fresco, a maioria dos canabinóides estão disponíveis sob a forma de seus ácidos precursores, que posteriormente, são convertidos, por um processo de descarboxilação, aos seus correspondentes canabinóides neutros e isso pode ocorrer ao longo do tempo, por aquecimento ou em condições alcalinas.⁴⁵ O Δ^9 -THC possui como principal molécula precursora o canabinóide Δ^9 -THCA A e a sua descarboxilação ocorre a partir de 125-150°C de temperatura.^{6,8,13,33} Considerando as condições de injeção direta por GCxGC-qMS (isto é, T = 280 °C), bem como a ausência do uso de métodos de derivatização de ácidos terpenofenólicos,¹⁰¹⁻¹⁰³ o método de GCxGC-qMS não se mostrou adequado para a identificação das espécies ácidas dos canabinóides, e possivelmente grande parte dos mesmos, especialmente o Δ^9 -THCA A, ainda existentes na amostra antes da análise, foram convertidas a suas formas neutras após injeção no equipamento.

O canabinóide CBN por sua vez, é produzido pela degradação do Δ^9 -THC, não existindo de forma natural na planta.^{30,33,47} A sua maior abundância pode ser justificada devido ao envelhecimento, condições de armazenamento da amostra bruta apreendida, bem como as condições de injeção. Qualquer um desses, além de outros fenômenos podem potencializar a degradação do Δ^9 -THC para gerar CBN.¹⁰⁴

O nome científico dos canabinóides identificados nas três amostras analisadas, bem como seus respectivos valores de M_w e similaridade são mostrados na **tabela 3**.

Tabela 3. Canabinóides identificados nas amostras de haxixe, flor e folha de *Cannabis* a partir dos dados de GCxGC-qMS, bem como seus respectivos valores de M_w , e similaridade.

	Canabinóide	Ion	M_w (Da)	Similaridade NIST %	Haxixe	Flor	Folha
Δ^8 -THC	Δ^8 -Tetraidrocanabinol	1	314	82	x	-	x
Δ^9 -THCV	Δ^9 -Tetraidrocanabivarin	2	286	78	x	x	-
CBD	Canabidiol	3	314	75	x	x	x
CBV	Canabivarin	4	282	78	x	x	-
CBC	Canabichromeno	5	314	86	x	x	x
CBL	Canabiciolol	6	314	80	x	x	x
CBCR	Canabicumarone	7	328	66	x	x	x
Δ^9 -THC	Δ^9 -tetraidrocanabinol	8	314	89	x	x	x
CBG	Canabigerol	9	316	83	x	x	-
CBN	Canabinol	10	310	84	x	x	x
8 α -OH- Δ^9 -THC	8 α -hidroxi- Δ^9 -THC	11	326	70	x	-	-

(x) corresponde a detectado e (-) a não detectado;

4.3 UPLC-ESI(+)TOF-MS, e ESI(+)MS/MS

Inicialmente, o perfil cromatográfico do Δ^9 -THC e seus isômeros (CBD e CBC) foram adquiridos no modo *full scan* pela técnica UPLC-ESI(+)TOF-MS, **figura 12a-c**. Os três isômeros de m/z 315,2354 são detectados na forma protonada, íon $[M+H]^+$, apresentando tempos de retenções de 5.71 min (CBC), 5.21 min (Δ^9 -THC) e 3.86 min (CBD).

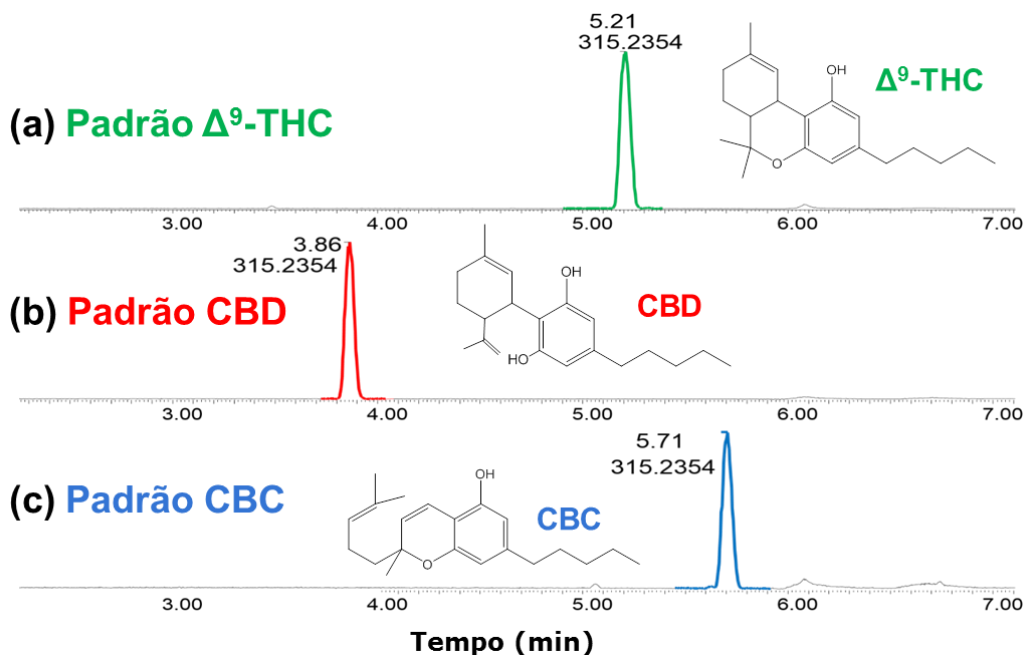


Figura 12. Cromatogramas obtidos por UPLC-ESI(+)-TOF-MS a partir da análise dos padrões de canabinóides de m/z 315: **(a)** Δ^9 -THC; **(b)** CBD e **(c)** CBC.

Experimentos CID foram realizados para fins de identificação dos perfis de fragmentação de cada canabinóide em m/z 315, e os espectros de ESI(+)MS/MS para as moléculas de CBD, Δ^9 -THC e CBC são mostrados nas **figura 13a-c**, respectivamente, bem como seus mecanismos de fragmentação (transições m/z 315 $\rightarrow$ 259, 315 $\rightarrow$ 193 e 193 $\rightarrow$ 123).

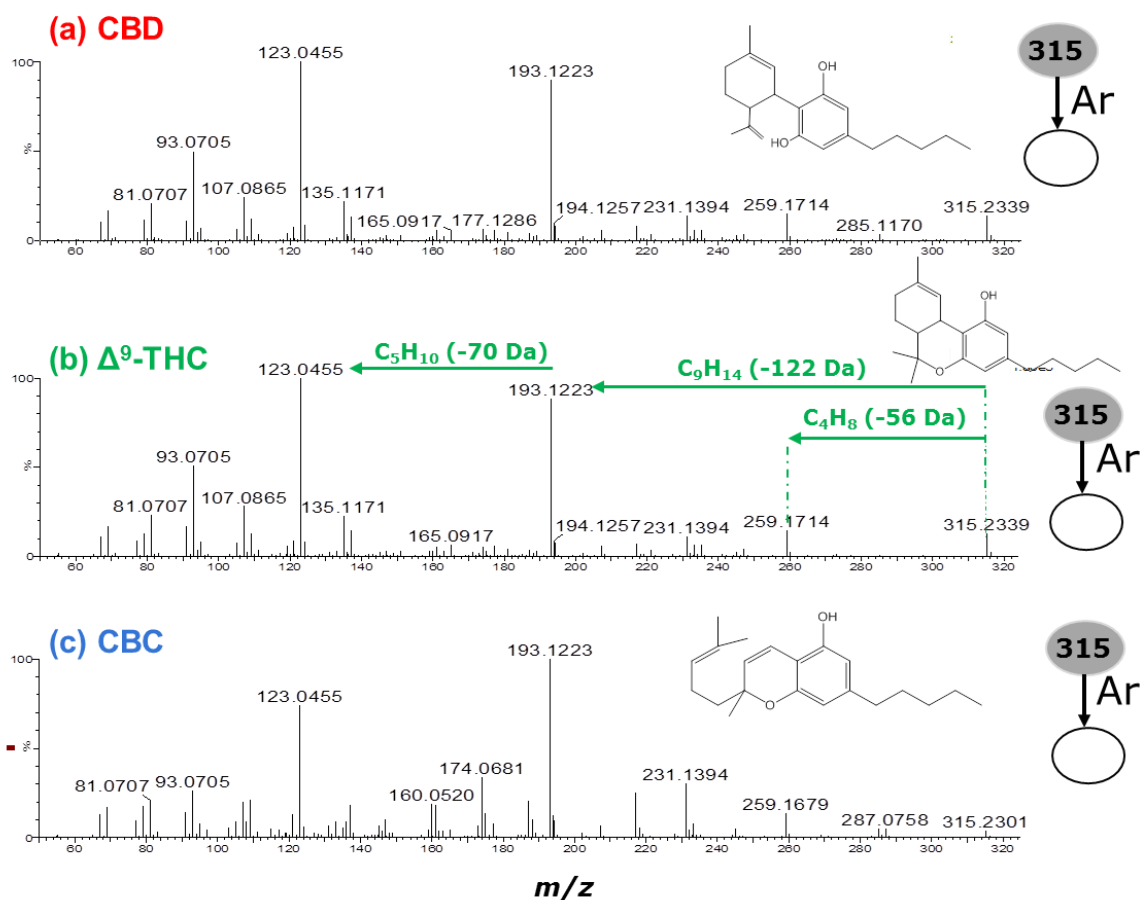


Figura 13. Experimentos de CID por ESI(+)MS/MS para os íons de m/z 315 dos padrões de canabinóides: **(a)** Δ^9 -THC; **(b)** CBD e **(c)** CBC.

Em geral, se observa uma semelhança nos padrões de fragmentação desses isômeros constitucionais,^{51,105,106} **figura 14**, no qual pode-se destacar como principais fragmentos, os sinais m/z 259, 193 e 123, sendo similar ao descrito para experimentos CID em amostras típicas de maconha apreendida pela PC-ES.^{51,74}

A perda neutra de 56 Da, transição m/z 315 $\rightarrow$ 259, representa a clivagem da cadeia lateral da molécula do canabinóide (grupo butila, C_4H_8) resultando no fragmento $[C_{17}H_{22}O_2+H]^+$ (estrutura I). Outra via de fragmentação pode ser justificada pela transição m/z 315 $\rightarrow$ 193, com perda neutra de 122 Da (C_9H_{14}). Após a quebra da ligação entre o carbono e oxigênio (função éter), nas moléculas de Δ^9 -THC e CBC, que pode ocorrer durante a própria etapa de protonação, e após abertura do anel de seis membros saturado (Δ^9 -THC e CBD), ocorre a formação do íon $[C_{12}H_{16}O_2+H]^+$ (II). Subsequentemente, existe uma perda neutra de 70 Da, transição m/z 193 $\rightarrow$ 123, que corresponde a saída da cadeia lateral da molécula (C_5H_{10} , penteno) e detecção do fragmento (III), íon $[C_7H_6O_2+H]^+$.

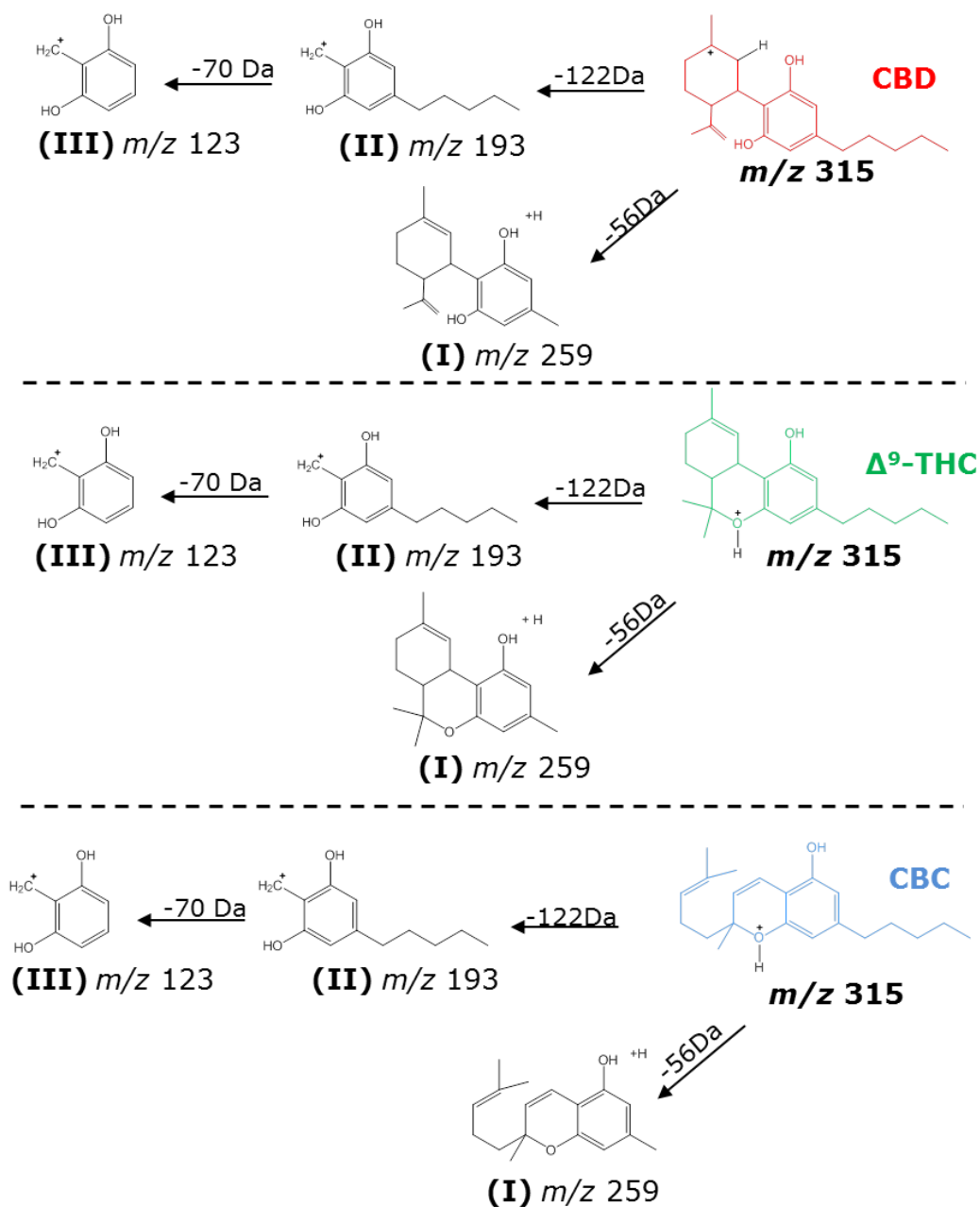


Figura 14. Proposta de mecanismo reacional simplificado a partir dos principais fragmentos identificados nos experimentos de CID realizados em três padrões isoméricos: **(a)** CBD, **(b)** Δ^9 -THC e **(c)** CBC.

A **figura 15a-d** sugere, de maneira mais detalhada, uma proposta de mecanismo reacional para os fragmentos dos padrões isoméricos CBD, Δ^9 -THC, e CBC.

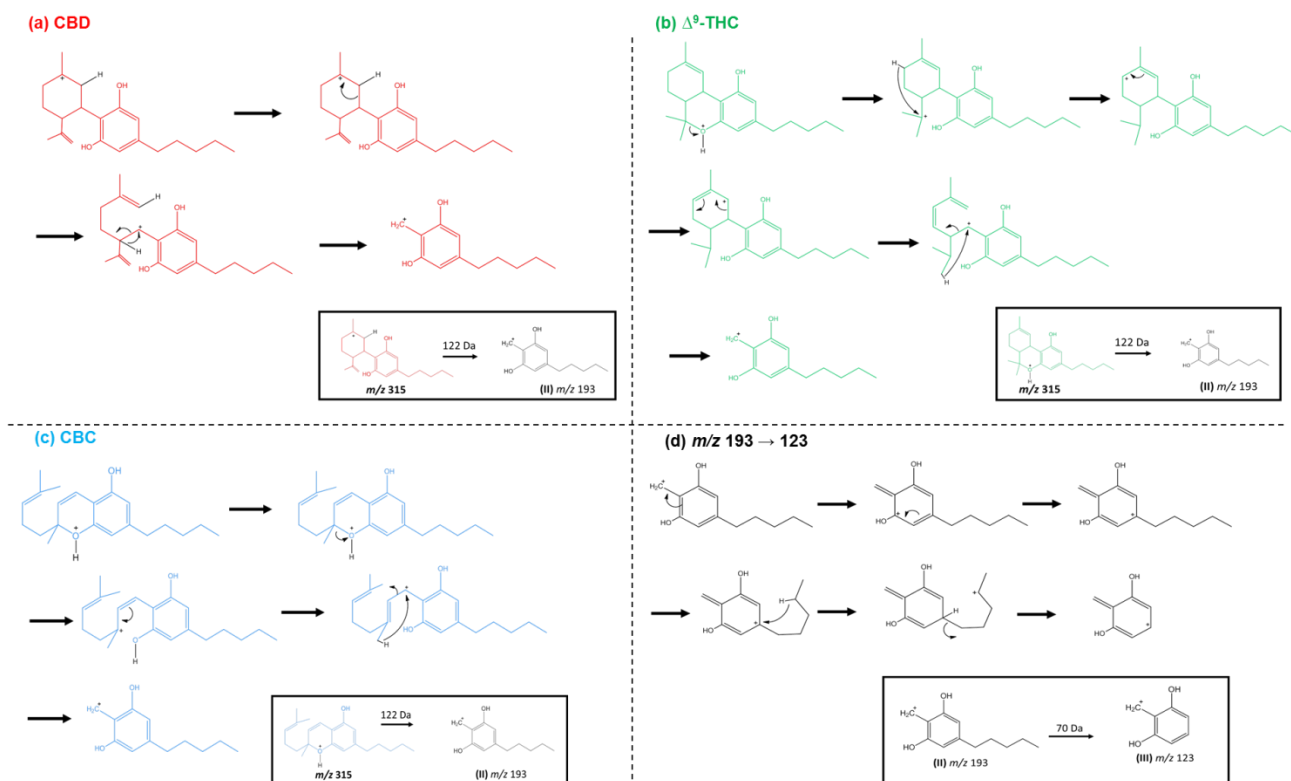


Figura 15. Proposta de mecanismo reacional sugeridos a partir dos principais fragmentos dos padrões isoméricos de canabinóides nos experimentos de CID, transições m/z 315 $\rightarrow$ 193: **(a)** CBD; **(b)** Δ^9 -THC; **(c)** CBC e transições **(d)** m/z 193 $\rightarrow$ 123 semelhante para todos.

Uma comparação entre o perfil químico dos cromatogramas de uma mistura equimolar isomérica dos padrões Δ^9 -THC, CBD e CBC (**figura 16a**) com amostras de maconha (**figura 16b**) e haxixe (**figura 16c**) é mostrada na **figura 16a-c**, sendo os resultados obtidos pela técnica de UPLC-ESI(+)-TOF-MS no modo *full scan* para a **figura 16a** e modo XIC do íon de m/z 315 para as **figura 16b-c**. Quando comparamos o perfil cromatográfico da **figura 16a** com os da **figura 16c** (amostra e haxixe), um total de oito isômeros de m/z 315,2354, isto é, 7 isômeros constitucionais do Δ^9 -THC, são detectados com $t = 2,58; 3,86; 4,99; 5,21; 5,71; 6,85; 8,95$ e $9,42$ min. Os íons com tempo de retenção em 3,86, 5,21 e 5,71 correspondem aos padrões de CBD, Δ^9 -THC e CBC, respectivamente.

Semelhantemente, ao comparar o cromatograma da mistura equimolar, **figura 16a**, com o cromatograma da maconha, **figura 16b**, sete isômeros de m/z 315,2354, portanto, seis isômeros constitucionais de Δ^9 -THC, puderam ser detectados, entre eles os canabinóides, CBD e CBC. Em ambos os casos, o composto Δ^9 -THC é a espécie mais abundante presente nas amostras de maconha e haxixe, **figura 16b-c**.

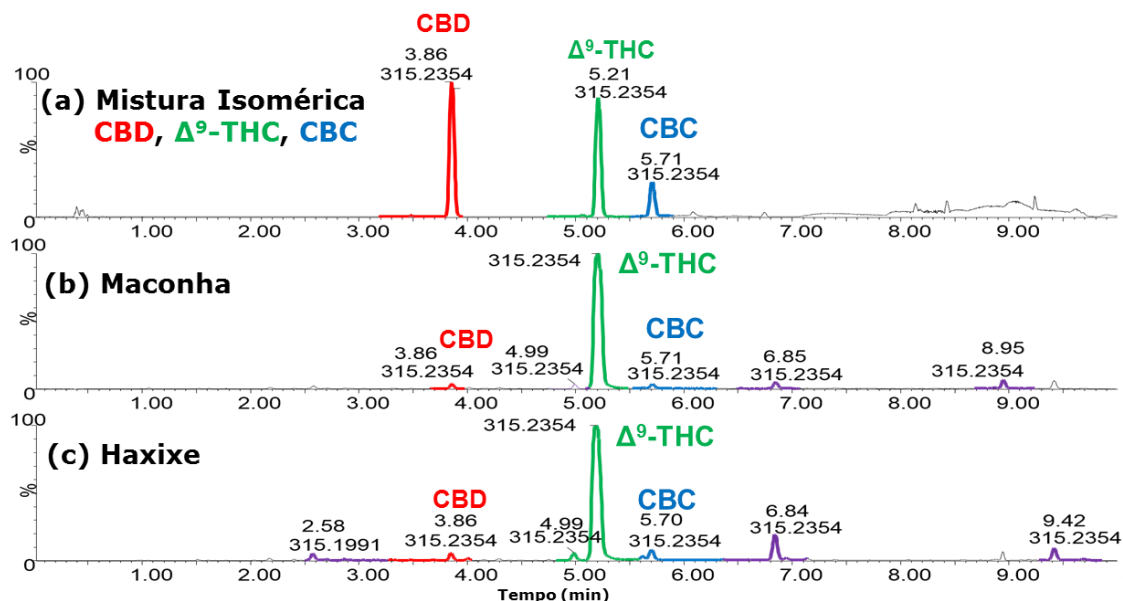


Figura 16. Cromatogramas obtidos por UPLC-ESI(+)-TOF-MS a partir da análise: **(a)** mistura isomérica dos padrões CBD, Δ^9 -THC e CBC (modo *full scan*); **(b)** amostra de maconha e **(c)** amostra de haxixe (modo XIC m/z 315).

Comparando os resultados obtidos pela técnica de UPLC-ESI(+)-TOF-MS, **figura 16a-c**, com os de GCxGC-qMS, **figura 11** e **tabela 3**, uma maior quantidade de isômeros do Δ^9 -THC foi detectado pela primeira (7 *versus* 4).

Os picos com $t = 8,95$ e $9,42$ min, **figura 16 b-c**, podem corresponder a dímeros contendo como estrutura básica um isômero de m/z 315, visto que nessa região do cromatograma, adquirido no modo *full scan*, se concentram íons com $m/z > 600$, **figura 17a-c**.

No modo *full scan*, o cromatograma, **figura 17b** (amostra de maconha) destaca-se o único pico com sinal m/z 315,2354 referente ao íon $[C_{21}H_{30}O_2+H]^+$, molécula do canabinóide Δ^9 -THC protonada. Na amostra de haxixe analisada, **figura 17c**, dois isômeros constitucionais ($C_{21}H_{30}O_2$), com m/z 315,2354, molécula protonada, puderam ser detectados; o Δ^9 -THC com mesmo tempo de retenção representado pelo padrão, **figura 17a**, e outro canabinóide de massa exata igual, porém com o tempo de retenção próximo a 7 min no cromatograma, portanto composto diferente dos três isômeros analisados.

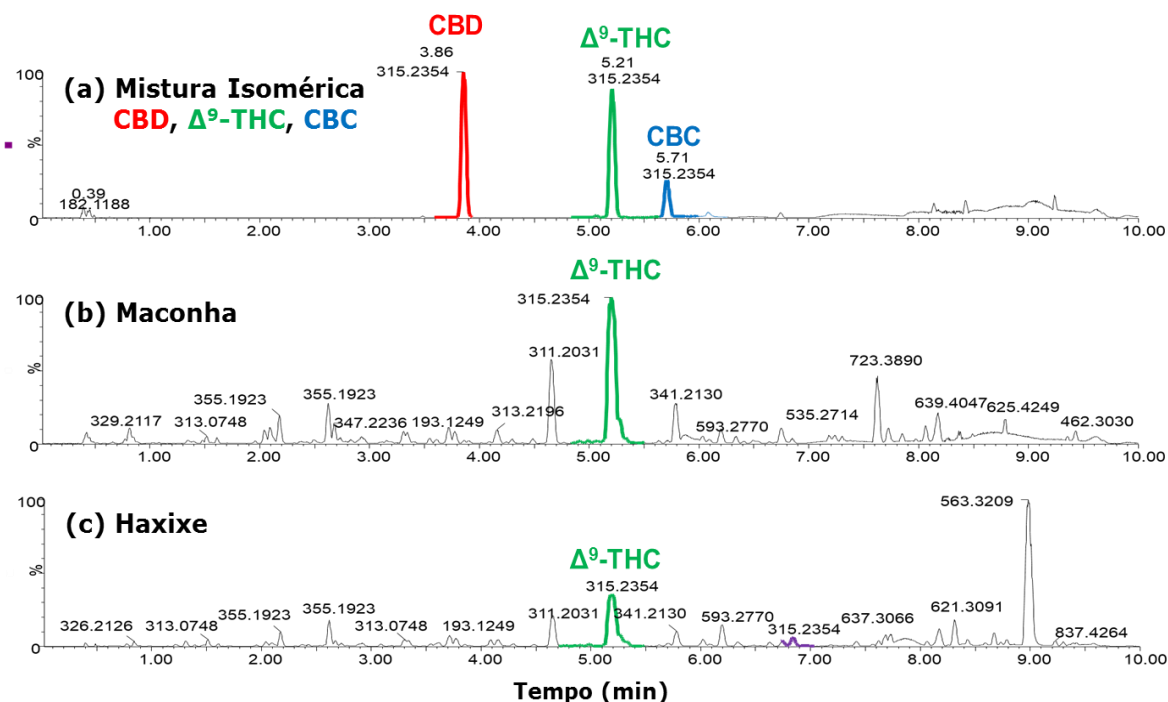


Figura 17. Cromatogramas obtidos por UPLC-ESI(+)TOF MS a partir da análise: **(a)** mistura isomérica dos padrões Δ^9 -THC, CBD e CBC; **(b)** amostra de maconha e **(c)** amostra de haxixe, no modo *full scan*.

4.4 UPLC-ESI(-)TOF-MS, UPLC-ESI(-)TWIM-MS, e ESI(-)MS/MS

O sistema UPLC-TOF-MS, **figura 18a-c**, e UPLC-TWIM-MS, **figura 18d-f**, foram aplicados no modo negativo de ionização, ESI(-), para os dois padrões isoméricos de canabinóides ácidos (Δ^9 -THCA A e CBDA) e sua mistura equimolar. Os padrões são detectados na forma desprotonada, íon $[M-H]^-$, com m/z 357,2104, no qual, o CBDA, **figura 18a e d**, é eluído em um tempo menor do que o Δ^9 -THCA A, **figura 18b e e**. Esse comportamento é análogo ao observado para essas mesmas espécies em suas respectivas formas neutras (Δ^9 -THC e CBD), **figura 12a-b**.

Para o sistema UPLC-ESI(-)TWIM-MS (Synapt G2-S), onde o sistema de UPLC é acoplado à mobilidade iônica, além da separação dos dois isômeros, existe o aparecimento de um pico adicional (6,90 min) no cromatograma do ácido Δ^9 -THCA A, **figura 18d**, bem como na mistura equimolar dos padrões, **figura 18f**.

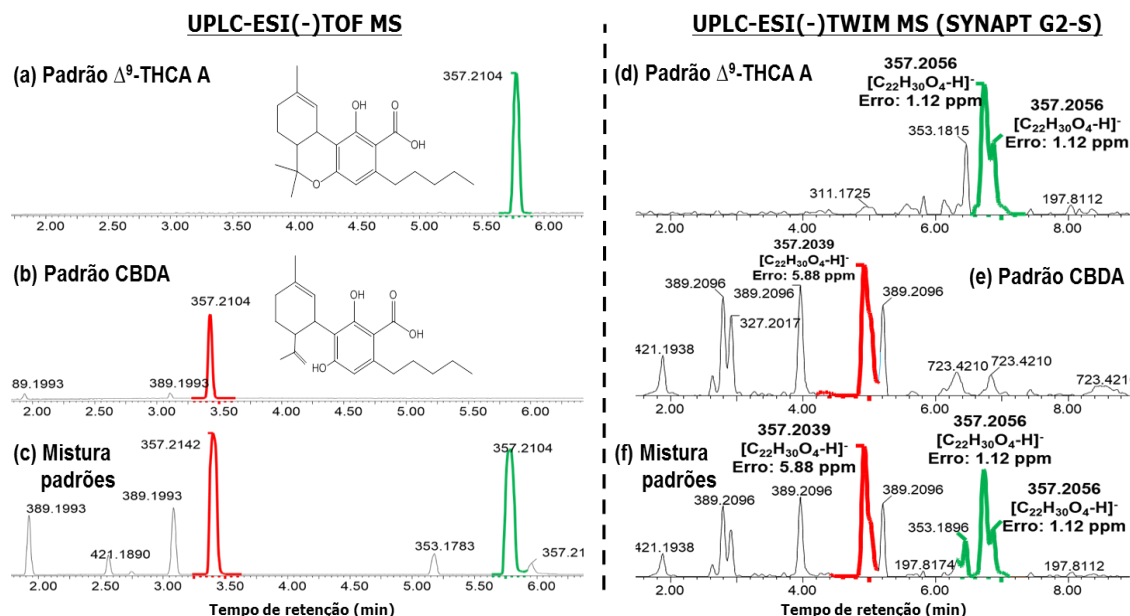


Figura 18. Comparação do perfil cromatográfico entre as técnicas de UPLC-ESI(-)TOF MS e UPLC-ESI(-)TWIM MS (SYNAPT G2-S) para os padrões de (a e d) Δ^9 -THCA A; (b e e) CBDA, bem como a mistura equimolar destes (c e f).

Em relação a detecção do outro pico no cromatograma do Δ^9 -THCA A (6,80 e 6,90 min), **figura 18d** e **f**, a proximidade entre eles é sugerida pela formação de um isômero com semelhantes propriedades físico-químicas ao do Δ^9 -THCA A, onde a sua interação com as fases móvel ou estacionária proporciona seu aparecimento, e até mesmo por um processo de isomerização do canabinóide, ou seja, a interconversão da molécula de Δ^9 -THCA A para Δ^9 -THCA B, onde o composto “A” apresenta o grupo carboxila em R_1 e o composto “B” em R_3 , **figura 19**, portanto, sua diferença estrutural está na posição do grupo carboxi da molécula ácida, posicionando-se em C_2 , ou seja, na posição *orto*-hidroxila para a molécula Δ^9 -THCA A ou em C_4 , posição *para*-hidroxila para a molécula de Δ^9 -THCA B. Outra possibilidade é a isomerização da molécula de Δ^9 -THCA A para Δ^8 -THCA A. Neste caso, a diferença estrutural entre elas estaria na posição da dupla ligação do anel de seis membros.^{107-109.}

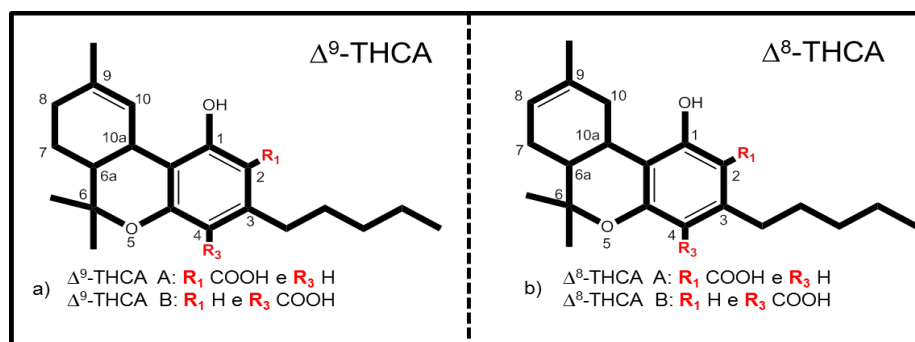


Figura 19. Estrutura molecular (a) Δ^9 -THCA A ou B e (b) Δ^8 -THCA A ou B.

Além dos isômeros do Δ^9 -THCA A, existe a detecção de um sinal com m/z 353 próximo a molécula de Δ^9 -THCA A, **figura 18d e f**. Esse pico pode representar a oxidação do padrão Δ^9 -THCA A, gerando como produto o ácido canabinólico (CBNA), que é detectado como íon $[C_{22}H_{26}O_4-H]^-$. O CBNA é um dos canabinóides precursores do CBN, e o mesmo não pode ser isolado a partir da planta de *Cannabis* fresca, mas, somente após o armazenamento ou degradação natural da planta.^{108,109} Dessa forma, a detecção do íon representado por esse canabinóide pode ser relacionada à conversão do padrão de Δ^9 -THCA A em CBNA.⁴¹

Experimentos de CID foram realizados para os padrões de CBDA e Δ^9 -THCA A, e os resultados de ESI(-)MS/MS do íon m/z 357 são mostrados na **figura 20a-b**, respectivamente. Diferentemente do padrão de fragmentação observado para seus respectivos canabinóides neutros, as moléculas de Δ^9 -THC e CBD, **figura 13a-b**, os perfis de fragmentação dos íons de m/z 357 foram distintos.

Para o padrão de CBDA, **figura 16a**, as fragmentações principais podem ser sugeridas inicialmente na transição m/z 357 $\rightarrow$ 339, representada pela perda neutra de 18 Da (H_2O), resultando na formação do fragmento $[C_{22}H_{28}O_3-H]^-$, estrutura **(I)**, **figura 17a**. Subsequentemente, a transição de fragmentação m/z 339 $\rightarrow$ 311, leva a perda neutra de 28 Da (CO), gerando o fragmento proposto na estrutura **(II)**, íon $[C_{21}H_{28}O_2-H]^-$. Outra possibilidade de fragmentação pode ser justificada pela transição m/z 357 $\rightarrow$ 313, demonstrando o processo de descarboxilação, perda neutra de 44 Da (CO_2) gerando a molécula de CBD, que está presente na forma desprotonada como íon $[C_{21}H_{30}O_2-H]^-$, estrutura **(IV)**.

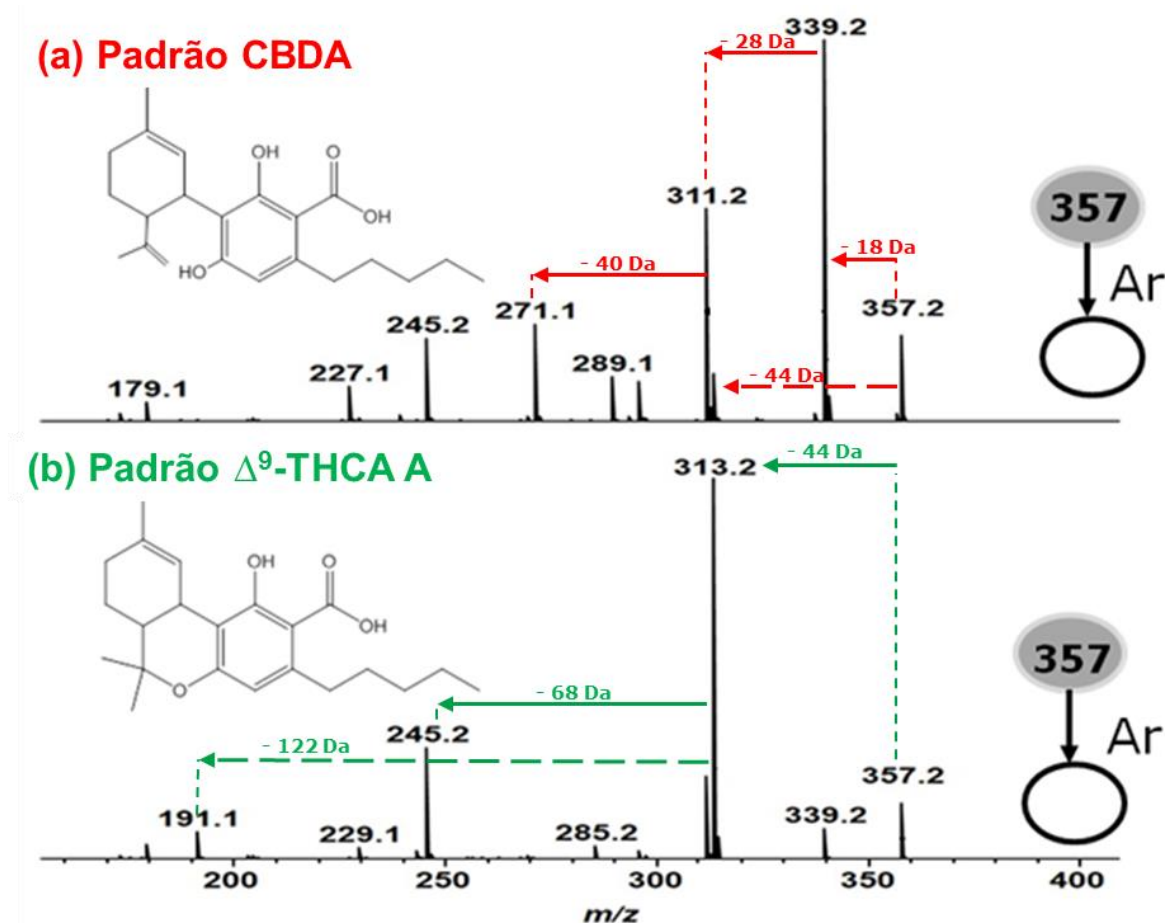


Figura 20. Experimentos de CID para os íon de m/z 357 correspondente aos padrões isoméricos de (a) CBDA e (b) Δ^9 -THCA A.

Para os experimentos de ESI(-)MS/MS do padrão de Δ^9 -THCA A, **figura 20b**, a transição m/z 357 $\rightarrow$ 313, resultou na perda neutra principal de 44 Da (CO_2) e formação do Δ^9 -THC^{30,33} como íon desprotonado $[\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2\text{-H}]^-$, estrutura (I). A transição subsequente, m/z 313 $\rightarrow$ 245, mostra a perda neutra de 68 Da (C_5H_8), devido a dupla cisão homolítica a partir do anel de seis membros, resultando na formação da estrutura (II), íon $[\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_2\text{-H}]^-$. Outra via de fragmentação a partir do íon m/z 313, é pela perda neutra de 122 Da via cisão da ligação carbono e oxigênio (do grupo éter cíclico), seguido da eliminação do grupo C_9H_{14} , transição m/z 313 $\rightarrow$ 191, formando a estrutura (III), $[\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{-H}]^-$.

Os íons detectados nos espectros de fragmentação dos padrões ácidos de canabinóide (CBDA e Δ^9 -THCA A) estão disponíveis em uma proposta de mecanismo reacional simplificado, **figura 21a-b**, sugeridas a partir das fragmentações dos padrões isoméricos ácidos.

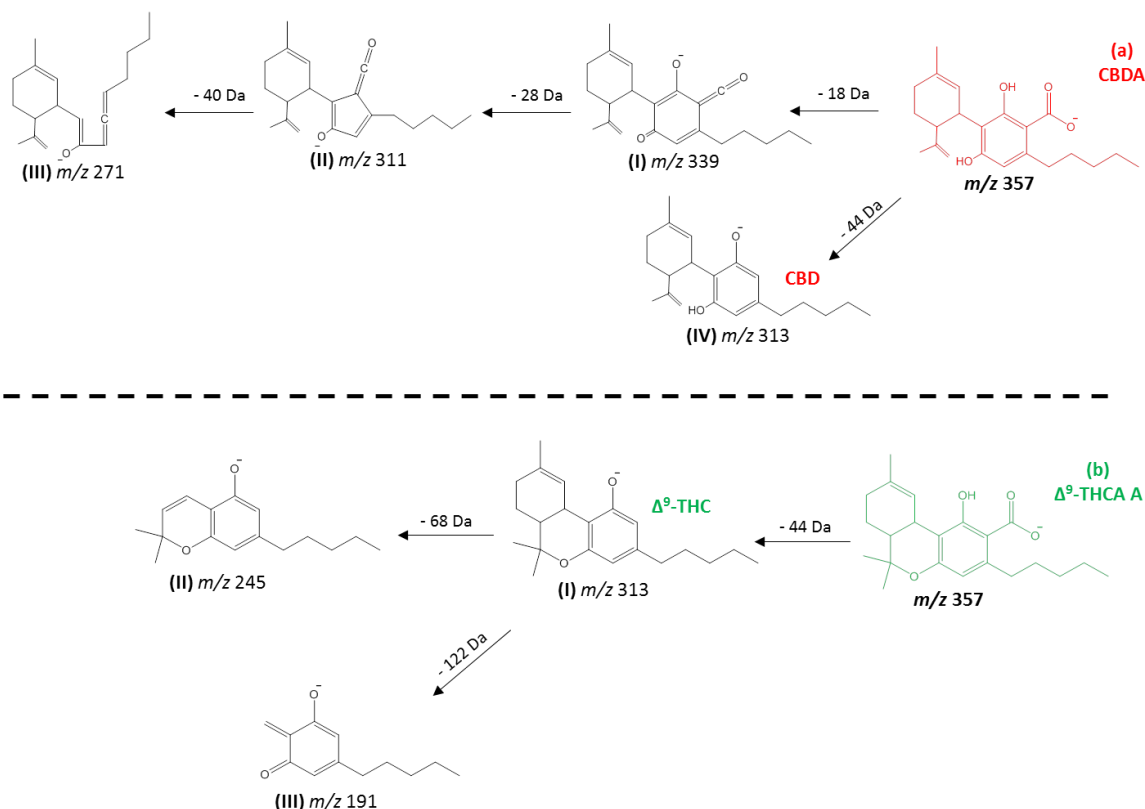


Figura 21. Proposta de mecanismo reacional simplificado a partir dos principais fragmentos identificados nos experimentos de CID realizados em dois padrões ácidos isoméricos: **(a)** CBDA e **(b)** Δ^9 -THCAA, a partir de ESI(-)MS/MS m/z 357.

Por fim, partes da planta *Cannabis* (folha e flor) e uma amostra de haxixe foram analisados pela técnica de UPLC-ESI(-)TWIM MS no modo *full scan*, **figura 22a-c**, e XIC, m/z 357, **figura 22d-f**, no qual uma grande quantidade de compostos é principalmente detectado para as amostras de haxixe e flor. Entre os picos detectados, destacam-se os sinais em m/z 309,1869, 345,2080, 353,1774, 359,2265, 357,2086, 367,1207, e 373,2411, **figura 22a-c**, onde as atribuições destes são mostradas na **Tabela 4**.

No que tange a presença de isômeros de m/z 357, cinco picos ($t = 4,63, 6,44, 6,55, 7,98$ e $8,76$ min) são observados no cromatograma da **figura 22e-f** correspondendo as amostras de flor e haxixe, respectivamente. Os picos em 4,63, 6,43 e 6,55 min correspondem aos isômeros CBDA, Δ^9 -THCA A e Δ^9 -THCA B, respectivamente. Já os demais picos em 7,98 e 8,76 podem corresponder a dímeros dos ácidos CBDA e Δ^9 -THCA A, bem como outras formas isoméricas de $M_w = 358$ Da que são descritos na **figura 4c**.

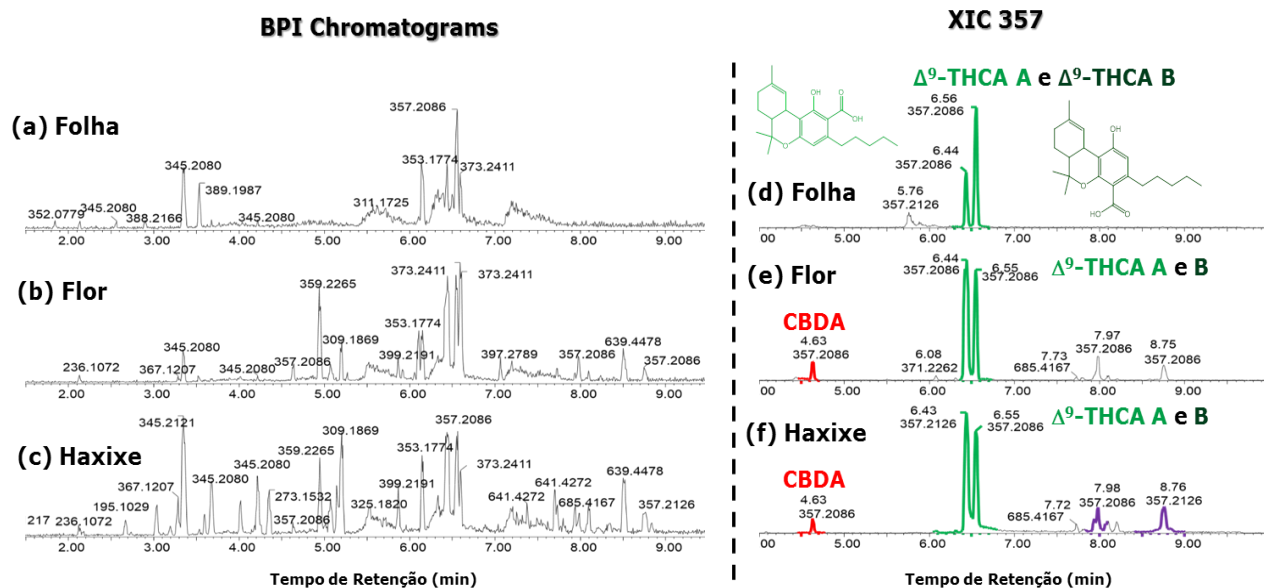


Figura 22. Cromatogramas obtidos por UPLC-ESI(-)TWIM MS no modo *full scan* e XIC, *m/z* 357 para as amostras de (a e d) folha; (b e e) flor; (c e f) haxixe.

Tabela 4. *m/z* medido, canabinóide proposto e quantidades detectadas em amostras de folha, flor e haxixe por UPLC-ESI(-)TWIM MS.

Nº	<i>m/z</i> medido	Canabinóide sugerido	Folha	Flor	Haxixe	Referência
1	309,1869	Canabinol, Canabinodiol ou Canabifurano	-	1	1	Nascimento, I.R et al, 2015; Romão, W. et al, 2017;
2	345,2080	Canabitriol, ácido Canabielsóico A ou B	3	2	3	Romão, W. et al, 2017; Kill, J. B. et al, 2016; Garrett, R. et al, 2013; Romão, W. et al, 2017;
3	353,1774	Ácido Canabinólico A	1	1	1	
4	357,2086	Δ^9 - ácido tetraidrocanabinólico A ou B, ácido canabicromênico, ácido canabiciclólico, ácido canabidiólico ou Δ^8 -ácido tetraidrocanabinólico A ou B	1	3	3	Romão, W. et al, 2017;
5	359,2265	Ácido canabigerólico	-	1	1	Nascimento, I.R et al, 2015; Romão, W. et al, 2017;
6	367,1207	8-ácido Hidroxicanabinólico A	-	1	1	Romão, W. et al, 2017; Watanabe, K., et al, 2007;
7	373,2411	11-Hidroxi- Δ^9 -ácido tetraidrocanabinólico, ácido canabigerólico monometileter	1	2	1	Jung, J., et al, 2009; Aizpurua-Olaizola, O., et al, 2014.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos pelo GC-MS demonstraram tempos de retenção próximos ($\Delta t=1.303$ min) na separação dos cinco padrões de canabinóides (Δ^9 -THC, CBD, CBC, CBN e CBG), enquanto o GCxGC-qMS proporcionou uma identificação e distinção substancialmente melhor de isômeros constitucionais de canabinóides, onde um total de 11 canabinóides (Δ^8 -THC, Δ^9 -THCV, CBD, CBV, CBC, CBL, CBCR, Δ^9 -THC, CBG, CBN, e 8α -OH- Δ^9 -THC) foram identificados na amostra de haxixe. Entre os canabinóides detectados, quatro são isômeros constitucionais do Δ^9 -THC (Δ^8 -THC, CBD, CBC e CBL). Por outro lado, informações químicas mais completas foram obtidas a partir das análises por UPLC-ESI-TOF MS e UPLC-ESI-TWIM MS, em que, ESI(+) revelou a existência de sete isômeros constitucionais de Δ^9 -THC, enquanto a ESI(-) provou a existência de quatro isômeros de Δ^9 -THCA A.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ ROMÃO, W., SCHWAB, N. V., BUENO, M. I. M. S., SPARRAPAN, R., EBERLIN, M. N., MARTINY, A., SABINO B. D., MALDANER, A. O. Química forense: perspectivas sobre novos métodos analíticos aplicados à documentoscopia, balística e drogas de abuso. *Quím. Nova*, **34**, 10, 1717-1728, 2011.
- ² MARTINS, B. S; OLIVREIRA, M. F. **Química forense experimental**. Editora Cengage Learning, São Paulo, 2016. 100-136 p.
- ³ LESNEY, M. S. MS allows law enforcement to detect the least of the lingering traces of crime: Forensic Mass Spectrometry. Instruments & Applications – *Am. Chem. Soc.*, **70**, 15-16, 2004.
- ⁴ CHINCHOLE, R., HATRE, P. M., DESAI, U. Recent applications of hyphenated liquid chromatography techniques in forensic toxicology: A review. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, **14**, 57-63, 2012.
- ⁵ BRUNI, A. T., VELHO, J. A., OLIVEIRA, M. F. D. **Fundamentos de Química Forense**: uma análise prática da química que soluciona crimes. Editora Millennium, 2012. 8-18 p.
- ⁶ United Nations Office On Drugs And Crime – UNODC, 2017 – Vienna. World Drug Report. Disponível em: <http://www.unodc.org/wdr2017>. Acessado em 20 de dez. 2017.
- ⁷ ELSOHL, M. A. **Marijuana and the Cannabinoids**. Editora Humana Press, Totowa, New Jersey, 2007.
- ⁸ MARIOTTI, K. C, MARCELO, M. C. A., ORTIZ, R. S., BORILLE, B. T., DOS REIS, M., FETT, M. S., LIMBERGER, R. P. Seized cannabis seeds cultivated in greenhouse: A chemical study by gas chromatography–mass spectrometry and chemometric analysis. *Sci. Justice*, **56**(1), 35-41, 2016.
- ⁹ Prestação de contas ordinária anual da Polícia Federal, relatório de gestão do exercício do ano de 2013. Disponível em: <https://contas.tcu.gov.br/econtrole/ObterDocumentoSisdoc?codArqCatalogado=7266>

953&seAbrirDocNoBrowser=1. Acesso em 20 dez. 2017.

¹⁰ Estatística de drogas apreendidas pelo Departamento de Polícia Federal. Disponível em: <http://www.pf.gov.br/imprensa/estatistica/drogas>. Acesso em 20 jan. 2018.

¹¹ PASSAGLI, M. **Toxicologia Forense: Teoria e Prática**. 2ª Ed. Campinas, São Paulo: Editora Millennium, 2009. 50-180 p.

¹² United Nations Office On Drugs And Crime – UNODC, 2013 – Vienna. World Drug Report. Disponível em: <http://www.unodc.org/unodc/index.html>, Acesso em: 20 dez. 2017.

¹³ HONORIO, K. M., ARROIO, A., SILVA, A. B. F. Aspectos terapêuticos de compostos da planta Cannabis sativa. *Quím. Nova*, São Paulo. **29**, 2, 318-325, 2005.

¹⁴ Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas – CEBRID. Maconha. Disponível em: http://www2.unifesp.br/dpsicobio/cebrid/quest_drogas/maconha.htm#13. Acesso em: 10 jan. 2018.

¹⁵ BORILLE, B. T. **Caracterização Química da Planta Cannabis Sativa L. a partir de Sementes Apreendidas Pela Polícia Federal No Estado Do Rio Grande do Sul**. Tese de Doutorado – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2016.

¹⁶ ROMÃO, W. **Novas Aplicações da Espectrometria de Massas em Química Forense**. Tese de Doutorado – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2010.

¹⁷ ECKERT, W. G. **Introduction to forensic sciences**. Ed. CRC press, New York: Elsevier. 2ª Ed. 1996. 8-15 p.

¹⁸ VILLANOVA, A.C. aparelhagem científica especializada e suas aplicações na polícia técnica. In: I congresso nacional de polícia técnica. São Paulo, 1947. Anais. Tipografia do Departamentode Investigações, 1950.

¹⁹ OLIVEIRA, M. F. Química Forense: A utilização da Química na pesquisa de vestígios de crime. *Quím. Nova Esc.*, **24**, 13-15, 2006.

- ²⁰ OGA, S., CAMARGO, M. M. A., BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**. 3ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. 435-40 p.
- ²¹ FRIEDMAN, D., SIRVEN, J. I. Historical perspective on the medical use of cannabis for epilepsy: Ancient times to the 1980s. *Epilepsy Behav.*, **70**, 298-301, 2017.
- ²² STEARN, W. T. Typification of *Cannabis sativa* L. Botanical Museum Leaflets, *Harvard University*, **23**(9), 325-336, 1974.
- ²³ United States Department of Agriculture (USDA). Natura Resources Conservation Service. Disponível em: <http://plants.usda.gov/classification.html>. Acesso em: 12 jan. 2017.
- ²⁴ ZULFIQAR, F., ROSS, S. A., SLADE D., AHMED, S. A., RADWAN, M. M., ALI, Z., KHAN, I. A., ELISOHLI, M. A. Cannabisol, a novel Δ -9-THC dimer possessing a unique methylene bridge, isolated from *Cannabis sativa*. *Tetrahedron Lett.*, **53**, 3560-3562, 2012.
- ²⁵ KARAMEPELA, S., PISTOS, C., MORAITIS, K., STOUKAS, V., PAPOUTSIS, I., ZORBA, E., KOUPPARIS, M., SPILIOPOULOU, C., ATHANASELIS, S. Development and validation of a LC/MS method for the determination of Δ 9-tetrahydrocannabinol 6 and 11-carboxy- Δ 9-tetrahydrocannabinol in the larvae of the blowfly *Lucilia sericata*: Forensic applications. *Sci. Justice*, **55**, 472-480. 2015.
- ²⁶ RAIKOS, N., SCHMID, H., NUSSBAUMER, S., AMBACH, L., LANZ, S., LÄNGIN, A., WEINMANN, W. Determination of Δ 9-tetrahydrocannabinolic acid A (Δ 9-THCA-A) in whole blood and plasma by LC–MS/MS and application in authentic samples from drivers suspected of driving under the influence of cannabis. *Forensic Sci. Int.*, **243**, 130-136, 2014.
- ²⁷ ELISOHLI, M. A., SLADE, D. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sci.*, **78**(5), 539-548, 2005.
- ²⁸ CARLINI, E. A., RODRIGUES, E., GALDURÓZ, J. C. F. *Cannabis sativa* L. e substâncias canabinóides em medicina. Centro Brasileiro de Informações sobre drogas psicotrópicas – CEBRID. Departamento de psicologia. 2004.

- ²⁹ NASCIMENTO, I. R. **Identificação Química em Nível Molecular de Amostras de Maconha por ESI-FT-ICR MS**. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Espírito Santo, 2014.
- ³⁰ NOVOTNY, M., LEE, M. L., LOW, C. E., RAYMOND, A. Analysis of marijuana samples from different origins by high-resolution gas-liquid chromatography for forensic application. *Anal. Chem.*, **48**(1), 24-29, 1976.
- ³¹ National Institute on Drug Abuse (NIDA). Disponível em: <<http://www.drugabuse.gov/publications/drugfacts/marijuana#mjextracts>>. Acesso em: 02 jan. 2017.
- ³² BORRELLI, F., FASOLINO, I., ROMANO, B., CAPASSO, R., MAIELLO, F., COPPOLA, D., IZZO, A. A. Beneficial effect of the non-psychotropic plant cannabinoid cannabigerol on experimental inflammatory bowel disease. *Biochem. pharmacol.*, **85**(9), 1306-1316, 2013.
- ³³ United Nations Office On Drugs And Crime – UNODC, 2009. *Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products*. Manual for use by national drug analysis laboratories. Vienna. Disponível em: <http://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/WDR-2009.html>. Acesso em: 02 jan. 2018.
- ³⁴ BORILLE, B. T., MARCELO, M. C. A., ORTIZ, R. S., DE CÁSSIA MARIOTTI, K., FERRÃO, M. F., LIMBERGER, R. P. Near infrared spectroscopy combined with chemometrics for growth stage classification of cannabis cultivated in a greenhouse from seized seeds. *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **173**, 318-323, 2017.
- ³⁵ RADWAN, M. M., ELSOHLY, M. A., EL-ALFY, A. T., AHMED, S. A., SLADE, D., HUSNI, A. S., ROSS, S. A. Isolation and Pharmacological Evaluation of Minor Cannabinoids from High-Potency Cannabis sativa. *J. Nat. Prod.*, **78**, 1271-1276, 2015.
- ³⁶ DE BACKER, B., MAEBE, K., VERSTRAETE, A. G., CHARLIER, C. Evolution of the Content of THC and Other Major Cannabinoids in Drug-Type Cannabis Cuttings and Seedlings During Growth of Plants. *J. Forensic Sci.*, **57**(4), 918-922, 2012.

- ³⁷ SHIBUYA, E. K., SARKIS, J. E. S., NETO, O. N., MOREIRA, M. Z., VICTORIA, R. L. Sourcing Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. *Forensic Sci. Int.*, **160**, 35-43, 2006.
- ³⁸ DE BACKER, B., DEBRUS, B., LEBRUN, P., THEUNIS, L., DUBOIS, N., DECOCK, L., CHARLIER, C. Innovative development and validation of an HPLC/DAD method for the qualitative and quantitative determination of major cannabinoids in cannabis plant material. *J. Chromatogr. B*, **877**(32), 4115–4124, 2009.
- ³⁹ WANG, M., WANG, Y. H., AVULA, B., RADWAN, M. M., WANAS, A. S., MEHMEDIC, Z., KHAN, I. A. Quantitative Determination of Cannabinoids in Cannabis and Cannabis Products Using Ultra-High-Performance Supercritical Fluid Chromatography and Diode Array/Mass Spectrometric Detection. *J. Forensic Sci.*, **62**(3), 602-611, 2017.
- ⁴⁰ CHANDRA, S., LATA, H., ElSohly, M. A. ***Cannabis sativa* L.**: Botany and Biotechnology. Editora Springer, 2017. 128-35 p.
- ⁴¹ THAKUR, G. A., DUCLOS, R. I., MAKRIYANNIS, A. Natural cannabinoids: templates for drug discovery. *Life Sci.*, **78**(5), 454-466, 2005.
- ⁴² ADAMS, R., HUNT, M., CLARK, J.H. Structure of cannabidiol, a product isolated from the marihuana extract of Minnesota wild hemp. I, *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 196 – 200, 1940.
- ⁴³ HAZEKAMP, A. *Cannabis; extracting the medicine*. Department of Pharmacognosy, (IBL), Faculty of Science, Leiden University, 2007.
- ⁴⁴ OBATA, Y., ISHIKAWA, Y. Constituents of hemp plant (*Cannabis sativa*). III. Isolation of a Gibbs-positive compound from Japanese hemp. *Agr. Biol. Chem.*, **30**(6), 619-620, 1966.
- ⁴⁵ VANHOVE, W., VAN DAMME, P., MEERT, N. Factors determining yield and quality of illicit indoor *Cannabis* (*Cannabis* spp.) production. *Forensic Sci. Int.*, **212**, 158-163, 2011.

- ⁴⁶ BROSEÚS, J., ANGLADA, F., ESSEIVA, P. The differentiation of fiber- and drug-type *Cannabis* seedlings by gas chromatography/mass spectrometry and chemometric tools, *Forensic Sci. Int.*, **200**, 87–92, 2010.
- ⁴⁷ PAOLINO, M. C., FERRETTI, A., PAPETTI, L., VILLA, M. P., PARISI, P. Cannabidiol as potential treatment in refractory pediatric epilepsy. *Expert Rev. Neurother.*, **16**(1), 17-21, 2016.
- ⁴⁸ DOMINGOS, E., DE CARVALHO, T. C., PEREIRA, I., VASCONCELOS, G. A., THOMPSON, C. J., AUGUSTI, R., RODRIGUES, R.T., TOSE, L.V., VAZ, B. G. Paper spray ionization mass spectrometry applied to forensic chemistry—drugs of abuse, inks and questioned documents. *Anal. Methods*, **9**(30), 4400-4409, 2017.
- ⁴⁹ DOS SANTOS, N. A., SOUZA, L. M., DOMINGOS, E., FRANÇA, H. S., LACERDA, V., BEATRIZ, A., KUSTER, R. M., ROMAO, W. Evaluating the selectivity of colorimetric test (Fast Blue BB salt) for the cannabinoids identification in marijuana street samples by UV–Vis, TLC, ESI (+) FT-ICR MS and ESI (+) MS/MS. *Forensic Chem.*, **1**, 13-21, 2016.
- ⁵⁰ ROMÃO, W., BORILLE, B. T., ORTIZ, R. S., DE CÁSSIA MARIOTTI, K., VANINI, G., TOSE, L. V., LIMBERGER, R. Chemical Profiling and Classification of Cannabis through Electrospray ionization coupled to Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry and Chemometrics. *Anal. Methods*, **9**, 4070-4081, 2017.
- ⁵¹ TOSE, L. V., SANTOS, N. A., RODRIGUES, R. R., MURGU, M., GOMES, A. F., VASCONCELOS, G. A., ROMÃO, W. Isomeric separation of cannabinoids by UPLC combined with ionic mobility mass spectrometry (TWIM-MS)—Part I. *Int. J. Mass Spectrom.*, **418**, 112-121, 2017.
- ⁵² RADWAN, M. M., ELSOHLI, M. A., EL-ALFY, A. T., AHMED, S. A., SLADE, D., HUSNI, A. S., ROSS, S. A. Isolation and Pharmacological Evaluation of Minor Cannabinoids from High-Potency Cannabis sativa. *J. Nat. Prod.*, **78**, 1271-1276, 2015.
- ⁵³ ELSOHLI, M. A. Chemical constituents of Cannabis. In: Grotenhermen, Franjo. Cannabis and Cannabinoids. Pharmacology, Toxicology, and Therapeutic Potential.

The Haworth Press, Binghamton, New York, 27-38 p. 2002.

⁵⁴ IZZO, A. A., NOCERINO, E., AMATO, M. Cannabis and cannabinoid receptors. *Fitoterapia*, **71**, 6-12, 2000.

⁵⁵ SIMOES, C. M. O. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Porto Alegre, Florianópolis: UFSC, 2001.

⁵⁶ SHIBUYA, E. K., SARKIS, J. E., NEGRINI-NETO, O., MARTINELLI, L. A. Carbon and nitrogen stable isotopes as indicative of geographical origin of marijuana samples seized in the city of Sao Paulo (Brazil). *Forensic Sci. Int.*, **167**(1), 8-15, 2007.

⁵⁷ TIPPARAT, P., NATAKANKITKUL, S., CHAMNIVIKAIPONG, P., CHUTIWAT, S. Characteristics of cannabinoids composition of Cannabis plants grown in Northern Thailand and its forensic application. *Forensic Sci. Int.*, **215**(1), 164-170, 2012.

⁵⁸ CARLINI, E. A. A história da maconha no Brasil. *J. Bras. Psiquiatr.*, **55**(4), 314-317. 2006.

⁵⁹ BIZZOTTO, A., RODRIGUES, A. B. *Nova lei de drogas: comentários à lei n. 11.343, de 23 de agosto de 2006*. Lúmen Júris, 2007.

⁶⁰ Lei nº 11.343, de 23 de Agosto de 2006. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/l11343.htm. Acesso em 02 de jan. de 2018.

⁶¹ OLIVEIRA, M. Senado discute uso medicinal da maconha. Disponível em: <http://www12.senado.leg.br/noticias/audios/2017/01/senado-discute-uso-medicinal-da-maconha>. Acesso em: 02 jan. 2018.

⁶² BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n.º 17, de 06 de Maio de 2015. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2015.

⁶³ MIRAGLIA, P. Drugs and drug trafficking in Brazil: Trends and policies. Center for 21st Century Security and Intelligence Latin America Initiative. Disponível em: <https://www.brookings.edu/wp-content/uploads/2016/07/Miraglia-Brazil-final.pdf>, 2016. Acessado em: 23 jan. 2018.

- ⁶⁴ BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n.º 66, de 18 de Março de 2016. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2016.
- ⁶⁵ YAMAMOTO, I., WATANABE, K., MATSUNAGA, T., KIMURA, T., FUNAHASHI, T., YOSHIMURA, H. Pharmacology and toxicology of major constituents of marijuana—on the metabolic activation of cannabinoids and its mechanism. *J. Toxicol.: Toxin. Rev.*, **22**(4), 577-589, 2003.
- ⁶⁶ ZUARDI, A. W., CRIPPA, J. A. S., HALLAK, J. E. C., MOREIRA, F. A., GUIMARAES, F. S. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, as an antipsychotic drug. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **39**, 421-429, 2006
- ⁶⁷ LEIZER, C., RIBNICKY, D., POULEV, A., DUSHENKOV, S., RASKIN, I. The composition of hemp seed oil and its potential as an important source of nutrition. *J. Nutr., func. & med. foods*, **2**(4), 35-53, 2000.
- ⁶⁸ BORDIN, D. C., MESSIAS, M., LANARO, R., CAZENAVE, S. O.S., COSTA, J. L. Análise forense: pesquisa de drogas vegetais interferentes de testes colorimétricos para identificação dos canabinóides da maconha (*Cannabis sativa* L.). *Quím. Nova*. **35**, 2040-2043, 2012.
- ⁶⁹ HOFFMANN, E., STROOBANT, V. **Mass spectrometry: Principles and Applications**. Bélgica: West Sussex: John Wiley & Sons, 2007. 98-103 p.
- ⁷⁰ GHISLAIN, T., FAURE, P., MICHELS, R. Detection and Monitoring of PAH and Oxy-PAHs by High Resolution Mass Spectrometry: Comparison of ESI, APCI and APPI Source Detection. *J. Am. Soc. Mass Spectr.* **23**, 530-536, 2012.
- ⁷¹ CORREA, D. N., SANTOS, J. M., TEUNISSEN, S. F., EBERLIN, L. S., EBERLIN, M. N. Forensic Chemistry and Ambient Mass Spectrometry: A perfect couple destined for a happy marriage? *Anal. Chem.*, **88**, 2515-2526, 2016.
- ⁷² COOKS, R. G. Ambient Mass Spectrometry. *Science*, **311**, 1566-1570, 2006
- ⁷³ KEBARLE, P., VERKERK, U. H. A. *Brief Overview of the Mechanisms Involved in Electrospray Mass Spectrometry. Reactive Intermediates*, Ed. Wiley-VCH, 84-89p, 2009.

- ⁷⁴ NASCIMENTO, I. R., COSTA, H. B., SOUZA, L. M., SOPRANI, L. C., MERLO, B. B., ROMÃO, W. Chemical identification of cannabinoids in street marijuana samples using electrospray ionization FT-ICR mass spectrometry. *Anal. Methods*, **7**(4), 1415-1424, 2015.
- ⁷⁵ COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Unicamp, São Paulo, 2006. 203-210 p
- ⁷⁶ LEITE, J. A. **Estudo do Perfil Químico de Apreensões de Maconha por RMN de 1H e Outras Técnicas Analíticas**. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2017.
- ⁷⁷ GROB, R. L., BARRY, E. F. **Modern practice of gas chromatography**. Editora John Wiley & Sons, 2004, 50-52 p.
- ⁷⁸ EIRAS, M. M., DE OLIVEIRA, D. N., FERREIRA, M. S., BENASSI, M., CAZENAVE, S. O. S., CATHARINO, R. R. Fast fingerprinting of cannabinoid markers by laser desorption ionization using silica plate extraction. *Anal. Methods*, **6**, 1350-1352, 2014.
- ⁷⁹ SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2008. 1020-28p.
- ⁸⁰ OMAR, J., OLIVARES, M., AMIGO, J. M., ETXEBARRIA, N. Resolution of co-eluting compounds of Cannabis sativa in comprehensive two-dimensional gas chromatography/mass spectrometry detection with multivariate curve resolution-alternating least squares. *Talanta*, **121**, 273-280, 2014.
- ⁸¹ LIU, Z., & PHILLIPS, J. B. Comprehensive two-dimensional gas chromatography using an on-column thermal modulator interface. *J. Chromatogr. Sci.*, **29**(6), 227-231, 1991.
- ⁸² BARBARÁ, J. A. **Emprego de diferentes técnicas de extração e da GCxGC para o estudo da fase aquosa gerada durante a produção do bio-óleo de palha de cana de açúcar**. Tese de Doutorado – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

- ⁸³ ADAHCHOUR, M., BEENS, J., VREULS, R. J. J., & BRINKMAN, U. T.. Recent developments in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC× GC): IV. Further applications, conclusions and perspectives. *TrAC Trends Analyt. Chem.*, **25**(8), 821-840, 2006.
- ⁸⁴ MUHLEN, C. V., ZINI, C. A., CARAMÃO, E. B., & MARRIOTT, P. J.. Nomenclatura na língua portuguesa em cromatografia multidimensional abrangente. *Quím. Nova*, **30**(3), 682-687, 2007.
- ⁸⁵ RUSTICHELLI, C., FERIOLI, V., VEZZALINI, F., ROSSI, M. C., GAMBERINI, G. Simultaneous separation and identification of hashish constituents by coupled liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS). *Chromatographia*, **43**(3), 129-134, 1996.
- ⁸⁶ STEPHANSON, N., JOSEFSSON, M., KRONSTRAND, R., BECK, O. Accurate identification and quantification of 11-nor- Δ 9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in urine drug testing: evaluation of a direct high efficiency liquid chromatographic–mass spectrometric method. *J. Chromatogr. B*, **871**(1), 101-108, 2008.
- ⁸⁷ UCHIYAMA, N., KIKURA-HANAJIRI, R., KAWAHARA, N., HAISHIMA, Y., GODA, Y. Identification of a cannabinoid analog as a new type of designer drug in a herbal product. *Chem. Pharm. Bull.*, **57**(4), 439-441. 2009.
- ⁸⁸ MANSOURI, H., ASRAR, Z., AMAROWICZ, R. The response of terpenoids to exogenous gibberellic acid in *Cannabis sativa* L. at vegetative stage. *Acta Physiol. Plant.*, **33**(4), 1085-1091, 2011.
- ⁸⁹ SIMÕES, S. S., AJENJO, A. C., DIAS, M. J. Qualitative and quantitative analysis of THC, 11-hydroxy-THC and 11-nor-9-carboxy-THC in whole blood by ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrom.*, **25**(18), 2603-2610, 2011.
- ⁹⁰ ENGEL, R. G., KRIZ, G. S., LAMPMAN, G. M., PAVIA, D. L. **Química Orgânica Experimental: Técnicas de escala pequena.** Tradução da 3ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 1015 p. 2012.
- ⁹¹ KUSTER, M., DE ALDA, M. L., BARCELÓ, D. Analysis of pesticides in water by

liquid chromatography-tandem mass spectrometric techniques. *Mass Spectrom. Rev.*, **25**(6), 900-916, 2006.

⁹² ASTARITA, G., PAGLIA, G., YU, K. Ion-Mobility Mass Spectrometry in Metabolomics and Lipidomics. *LC GC Eur.*, **28**(9), 520, 2015

⁹³ KANU, A. B., DWIVEDI, P., TAM, M., MATZ, L., HILL, H. H. Ion mobility–mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, **43**(1), 1-22, 2008.

⁹⁴ LALLI, P. M. **Mobilidade iônica acoplada a espectrometria de massas: Interferência de parâmetros do drift gas na resolução de anilinas substituídas e determinação da mobilidade intrínseca de agregados de líquidos iônicos.** Dissertação de Mestrado – UNICAMP, Campinas, 2010.

⁹⁵ REVERCOMB, H. E., MASON, E. A. Theory of plasma chromatography/gaseous electrophoresis. Review. *Anal. Chem.*, **47**(7), 970-983. 1975.

⁹⁶ COLLINS, D., LEE, M. Developments in ion mobility spectrometry-mass spectrometry. *Anal. Bioanal Chem.*, **372**(1), 66-73, 2002.

⁹⁷ WU, C., SIEMS, W. F., ASBURY, G. R., HILL, H. H. Electrospray ionization high-resolution ion mobility spectrometry–mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **70**(23), 4929-4938, 1998.

⁹⁸ JOHNSON, P. V., BEEGLE, L. W., KIM, H. I., EICEMAN, G. A., KANIK, I. Ion mobility spectrometry in space exploration. *Int. J. Mass Spectrom.*, **262**(1), 1-15, 2007.

⁹⁹ VERBECK, G. F., RUOTOLO, B., SAWYER, H., GILLIG, K., RUSSELL, D. A fundamental introduction to ion mobility mass spectrometry applied to the analysis of biomolecules. *J. Biomol Tech.: JBT*, **13**(2), 56, 2002.

¹⁰⁰ ARMENTA, S., GARRIGUES, S., GUARDIA, M., BRASSIER, J., ALCALÀ, M., BLANCO, M., GALIPIENSO, N. Detection and characterization of emerging psychoactive substances by ion mobility spectrometry. *Drug Test. Anal.*, **7**(4), 280-289, 2015.

¹⁰¹ FODOR, B., MOLNÁR-PERL, I. The role of derivatization techniques in the

analysis of plant cannabinoids by gas chromatography mass spectrometry. *Trac-Trend. Anal. Chem.*, **95**, 149-158, 2017.

¹⁰² PURSCHKE, K., HEINL, S., LERCH, O., ERDMANN, F., VEIT, F. Development and validation of an automated liquid-liquid extraction GC/MS method for the determination of THC, 11-OH-THC, and free THC-carboxylic acid (THC-COOH) from blood serum. *Anal. bioanal. Chem.*, **408**(16), 4379-4388, 2016.

¹⁰³ OMAR, J., OLIVARES, M., ALZAGA, M., ETXEBARRIA, N. Optimisation and characterisation of marihuana extracts obtained by supercritical fluid extraction and focused ultrasound extraction and retention time locking GC-MS. *J. Sep. Sci.*, **36**(8), 1397-1404, 2013.

¹⁰⁴ ROSS, S. A., ELSOHL, M. A. CBN and Δ^9 -THC concentration ratio as an indicator of the age of stored marijuana samples. *B. Narcotics*, **49**(50), 139-139, 1997.

¹⁰⁵ POKLIS, J. L., THOMPSON, C. C., LONG, K. A., LICHTMAN, A. H., POKLIS, A. Disposition of cannabichromene, cannabidiol, and Δ^9 -tetrahydrocannabinol and its metabolites in mouse brain following marijuana inhalation determined by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Anal. Toxicol.*, **34**(8), 516-520, 2010.

¹⁰⁶ BIJLSMA, L., SANCHO, J. V., HERNÁNDEZ, F., NIESSEN, W. Fragmentation pathways of drugs of abuse and their metabolites based on QTOF MS/MS and MSE accurate-mass spectra. *J. Mass Spectrom.*, **46**(9), 865-875, 2011.

¹⁰⁷ HANUŠ, L. O., MEYER, S. M., MUÑOZ, E., TAGLIALATELA-SCAFATI, O., APPENDINO, G. Phytocannabinoids: a unified critical inventory. *Nat. Prod. rep.*, **33**(12), 1357-1392, 2016.

¹⁰⁸ BORILLE, B. T., GONZÁLEZ, M., STEFFENS, L., ORTIZ, R. S., LIMBERGER, R. P. Cannabis sativa: A systematic review of plant analysis. *Drug. Anal. Res.*, **1**(1), 1-23, 2017

¹⁰⁹ SMITH, R. N. High-pressure liquid chromatography of cannabis: Identification of separated constituents. *J. Chromatogr. A*, **115**(1), 101-106, 1975.