



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA



MARINA DE CARVALHO DUTRA

CANABINOIDES SINTÉTICOS: VELHOS CONHECIDOS DE CARA NOVA

Ouro Preto, MG

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

MARINA DE CARVALHO DUTRA

CANABINOIDES SINTÉTICOS: VELHOS CONHECIDOS DE CARA NOVA.

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao curso de graduação em Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Karina T. Santos Rúbio

Ouro Preto, MG

2021

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

D978c Dutra, Marina de Carvalho .
Canabinoides sintéticos [manuscrito]: velhos conhecidos de cara
nova. / Marina de Carvalho Dutra. - 2021.
66 f.: il.: color., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Karina Taciana Santos Rúbio.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola
de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Canabinoides . 2. Entorpecentes. 3. Drogas ilícitas. 4. Testes de
toxicidade. 5. Psicotrópicos. I. Rúbio, Karina Taciana Santos. II.
Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU 613.83

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

Marina de Carvalho Dutra

Canabinoides sintéticos: velhos conhecidos de cara nova

Monografia apresentada ao Curso de graduação em Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Farmácia

Aprovada em 23 de agosto de 2021

Membros da banca

Dr^a Karina Taciana Santos Rubio - Orientador(a) Universidade Federal de Ouro Preto
Dr^a Maria Elvira Poleti Martucci - Universidade Federal de Ouro Preto
Dr^a Ananda Lima Sanson - Universidade Federal de Ouro Preto

Karina Taciana Santos Rubio, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 18/10/2021



Documento assinado eletronicamente por **Karina Taciana Santos Rubio, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 04/11/2021, às 14:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0240581** e o código CRC **D398E7DF**.

Agradecimentos

Agradeço à minha mãe por ser sempre o meu suporte e por não ter medido esforços para me oferecer todas as estruturas para chegar até aqui.

Ao meu irmão Eduardo pela confiança e carinho.

Ao Vinícius que sempre acreditou e confiou em mim, até mesmo quando eu já não acreditava mais em mim mesma e no curso.

À Manu e Gabriel por entenderem, mesmo tão pequenos, que às vezes a “mamãe” não poderia brincar, que teria que estudar, tiveram maturidade para esperar...e foram muitos dias, meses e anos que abdiquei de um tempo livre com eles para focar nos estudos.

À orientadora, Profa. Dra. Karina, pela oportunidade, atenção e ensinamentos compartilhados.

À Izamara, companheira de jornada, que jamais permitiu que eu desanimasse e desistisse.

À Maria Emília, Maria Isabel e Thaís, por acompanharem minha caminhada desde a infância e sempre torcendo pelo meu sucesso.

A todos que, de alguma forma, colaboraram para a realização deste trabalho, muito obrigada.

RESUMO

Canabinoides sintéticos são classificados como novas substâncias psicoativas, que tem como características maiores efeitos psicotrópicos e tóxicos do que o delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), principal fitocanabinoide responsável pelos efeitos psicoativos da planta *Cannabis sativa*. Esses efeitos potencializados se dão, pois, essas novas substâncias possuem maior afinidade com os receptores canabinoide CB₁ e CB₂, que o THC. Essas novas drogas de abuso podem ser vendidas livremente, inclusive pela internet, como misturas de ervas e incensos, com as mais variadas denominações como “*Spice Gold*” e “K2”. Essa facilidade ao acesso, juntamente com efeitos tóxicos potencializados, podem acarretar consequências sérias, como intoxicações graves e até óbitos. Desta forma, a determinação dos canabinoides sintéticos e dos seus metabolitos em amostras biológicas assume grande interesse em Toxicologia Forense. Sendo assim, foi realizado uma extensa revisão de literatura sobre as principais características dos canabinoides sintéticos, incluindo seus aspectos estruturais e químicos, aspectos farmacocinéticos e toxicológicos e ainda o perfil do seu consumo no Brasil e no mundo. Por fim, são descritas as principais matrizes biológicas usadas para sua detecção, metodologias de preparo destas amostras e métodos de confirmação e detecção destas drogas.

Palavras-chave: Canabinoides sintéticos; “*spice gold*”; toxicológico; matrizes biológicas; análise.

ABSTRACT

Synthetic cannabinoids are classified as new psychoactive substances, which are characterized by greater psychotropic and toxic effects than delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), the main phytocannabinoid responsible for the psychoactive effects of the *Cannabis sativa* plant. These potentiated effects occur because these new substances have greater affinity with the cannabinoid receptors CB₁ and CB₂ than THC. These new drugs of abuse can be sold freely, including over the internet, as mixtures of herbs and incense, with the most varied names such as “Spice Gold” and “K2”. This ease of access, together with potentiated toxic effects, can lead to serious consequences, such as serious poisoning and even death. Thus, the determination of synthetic cannabinoids and their metabolites in biological samples is of great interest in Forensic Toxicology. Therefore, an extensive literature review was carried out on the main characteristics of synthetic cannabinoids, including their structural and chemical aspects, pharmacokinetic and toxicological aspects, as well as the profile of their consumption in Brazil and in the world. Finally, the main biological matrices used for their detection, methodologies for prepare these samples and confirmation and detection methods for these drugs are described.

Keywords: Synthetic cannabinoids; *spice gold*; toxicological, biological matrices, analysis.

Lista de Figuras

Figura 1 - A planta Cannabis sativa.....	17
Figura 2 - Estruturas dos principais endocanabinoides: (a) Anandamida e (b) 2-araquidonoil glicerol.	18
Figura 3 - Representação esquemática da ação endocanabinoide nos neurônios pré-sinápticos e pós-sinápticos.....	19
Figura 4 - Representação estrutural dos fitocanabinoides: (a) canabinol; (b) THC e (c) canabidiol.....	19
Figura 5 - Estrutura química do fármaco Dronabinol..	20
Figura 6 - Produtos comercializados contendo canabinóides sintéticos sob os mais variados nomes e embalagens.	22
Figura 7 - – Estruturas químicas do WIN 55,212-2, THC e JWH-018.....	23
Figura 8 - Estrutura química do N-(1-Adamantil) -1-Pentil -1H-Indazole-3-CarboxAmida....	23
Figura 9 - Estruturas químicas de alguns canabinoides sintéticos pertencentes à primeira geração..	24
Figura 10 - Estruturas químicas de alguns canabinoides sintéticos pertencentes à segunda geração.	24
Figura 11 - Estruturas químicas de alguns canabinoides sintéticos pertencentes à segunda geração..	25
Figura 12 – Esquema demonstrando o metabolismo de primeira passagem.....	26
Figura 13 - Metabolismo do canabinoide sintético JWH-018.....	28
Figura 14- Metabolismo do canabinoide sintético JWH-200, sendo M3 um dos possíveis metabólitos formados.	29
Figura 15 - Metabolismo dos canabinóides sintéticos PB-22 e 5F-PB-22, correspondendo ao 1-pentil-1H-indol-3-ácido carboxílico..	30
Figura 16 - Comparação entre os principais grupos de novas substâncias psicoativas identificadas por meio do mecanismo de alerta rápido desde 2005, na Europa.....	33
Figura 17 - Estruturas dos canabinoides sintéticos a) JWH-015 e b) JWH-073.	37
Figura 18 - Reação catalisada pela β -glucuronidase.....	41
Figura 19 - Esquema mostrando as etapas da extração em fase sólida. A: analito; Pi: padrão interno; I: interferentes da matriz.....	45
Figura 20 - Esquema de cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas.	46
Figura 21 - Espectros de massa típicos de canabinóides sintéticos obtidos por GC-MS: a) JWH-018, b) RCS-4, c) JWH-250, d) AM-1220, e) THJ-018.	48

Figura 22 – Cromatografia por LC–MS–MS do canabinoide JWH-018 e JWH—073, contidos no produto comercial de nome “Voodoo Spice”. 51

Lista de Tabela

Tabela 1 - Comparação entre as matrizes biológicas.....38

Lista de Quadros

Quadro 1 - Comparativo entre as estruturas dos fitocanabinoides, endocanabinoides e canabinoides sintéticos.....	21
Quadro 2 - Principais efeitos tóxicos dos CS.....	32
Quadro 3 - Quadro 3 - Características gerais das fontes de ionização à pressão atmosférica (ESI, APCI e APPI).....	50

Lista de siglas

THC – delta-9-tetrahidrocanabinol

CB – Compostos canabinoides

AEA - N-aracondonil etanolamina

2-AG – 2-araquidonil glicerol

CBN – Canabinol

CBD – Canabidiol

CS – Canabinoides sintéticos

FDA – Do inglês *Food and Drug Administration*

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*)

CYP450 – Citocromo P450

EPM/UNIFESP - Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo

GDS – do inglês *Global Drugs Survey*

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

PPT - Precipitação de proteínas

ELL - Extração líquido-líquido

SALLE – Extração líquido-líquido assistida por salting-out (do inglês *Salting-out liquid-liquid extraction*)

HILIC - Cromatografia líquida por interação hidrofílica (do inglês *Hydrophilic-Interaction Chromatography*)

SPE – Extração em fase sólida (do inglês *Solid-phase extraction*)

GC/MS - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (do inglês *Gas-chromatography-mass spectrometry*)

IE – Impacto de elétrons

IQ – Ionização química

FM – Fase móvel

FE – Fase estacionária

CG – Cromatografia gasosa

LC-MS/MS – Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (do inglês *Liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry*)

ESI – Ionização por electrospray (do inglês *Electrospray ionization*)

APCI - Ionização química à pressão atmosférica (do inglês *atmospheric pressure chemical ionization*)

APPI - Fotoionização à pressão atmosférica (do inglês *atmospheric pressure photoionization*)

HILIC - cromatografia por interações hidrofílicas (do inglês *hydrophilic interaction chromatography*).

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivo geral	15
2.2. Objetivos específicos	15
3. METODOLOGIA.....	16
4. Desenvolvimento	17
4.1. Tipos de canabinoides	18
4.1.1. Canabinoides endógenos e naturais (fitonacabinoides).....	18
4.1.2. Canabinoides sintéticos (CS).....	20
4.2. Aspectos estruturais e químicos dos CS	22
4.2.1. Classificação química	22
4.2.2. Estrutura química.....	23
4.3. Aspectos farmacológicos e toxicológicos dos CS	25
4.3.1. Absorção	25
4.3.2. Distribuição	26
4.3.3. Metabolismo	27
4.3.4. Excreção.....	30
4.3.5. Efeitos Tóxicos	31
4.4. Consumo de CS no Brasil e no Mundo.....	33
4.5. Métodos de análise para detecção de CS	35
4.5.1. Matrizes biológicas	36
4.5.1.1. Sangue total e soro.....	36
4.5.2. Pré-tratamento das amostras.....	39
4.5.2.1. Precipitação de proteínas (PPT)	39
4.5.2.2. Hidrólise enzimática	40
4.5.2.3. Extração líquido-líquido (ELL).....	41
4.5.2.4. Extração líquido-líquido assistida por Salting-out (SALLE).....	42
4.5.2.5. Extração em fase sólida (SPE)	43
4.5.3. Métodos de confirmação	45
4.5.3.1. Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS)	45
4.5.4.2. Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS/MS)	48
5. CONCLUSÕES	53

6. REFERÊNCIAS	54
----------------------	----

1. INTRODUÇÃO

A maconha produzida a partir da planta *Cannabis sativa*, figura entre as drogas de abuso mais consumidas no Brasil e no mundo (PAPASEIT, *et al.*, 2018). A utilização terapêutica da *Cannabis*, dos seus compostos e derivados é conhecida há muitos anos, no entanto, o estudo das suas propriedades, dos seus análogos e dos receptores canabinoides (CB₁ e CB₂) é ainda muito recente (RIBEIRO, 2014).

Dentre os compostos que podem ser extraídos da planta tem-se o canabinoide natural, Δ^9 -tetra-hidrocanabinol (THC), que é o principal componente ativo, além do canabidiol e canabinol, estes, são conhecidos como fitocanabinoides (FERNANDES, 2013). Há ainda os endocanabinoides, N-aracondonil etanolamina e a 2-araquidonoil glicerol, que atuam como agonistas nos mesmos receptores CB₁ e CB₂ que os fitocanabinoides (MATOS, *et al.* 2006). E por fim, tem-se os canabinoides sintéticos que também atuam como agonistas potentes e completos dos mesmos receptores que os fito e endocanabinoides, porém, com maior afinidade que o THC (PINTORI *et al.* 2017).

A proposta inicial do desenvolvimento dos canabinoides sintéticos se relacionava com o uso terapêutico, não com consumo abusivo (WILEY *et al.*, 2016). Entretanto, devido a esta maior afinidade com CB₁ e CB₂, o que causa uma maior potencialidade dos efeitos psicoativos, tornaram-se populares em função desta característica (FATTORE E FRATTA, 2011). Normalmente, são vendidos em embalagens coloridas e chamativas, a fim de se seduzir os usuários e são descritos como mistura de ervas, excluindo qualquer possibilidade de serem enquadradas em drogas de abuso (FATTORE E FRATTA, 2011). Estas embalagens podem conter ervas que foram processadas juntamente com produtos químicos, como por exemplo, plantas contendo canabinoides sintéticos impregnados. Estes compostos são misturados com o material vegetal ou polvilhados sobre este, normalmente numa escala industrial, utilizando solventes como a acetona ou o metanol para dissolver os pós (HENRIQUES, 2018). Embora esses produtos não contenham tabaco ou *cannabis*, quando fumadas, produzem efeitos semelhantes ou mais potentes do que os do THC (FATTORE E FRATTA, 2011).

Segundo Znalezionna *et al.*, os canabinoides sintéticos apresentam efeitos tóxicos semelhantes aos do THC, como por exemplo, ataques de pânico, taquicardia, hipotensão, arritmias cardíacas, perturbações cognitivas, dentre outras. Porém, uma vez que as afinidades com os receptores são maiores, acredita-se que esses efeitos podem ser potencializados e agravados (ZNALEZIONNA, 2015).

Além dos efeitos tóxicos potencializados dessas novas drogas de abuso, outra desvantagem é que suas estruturas químicas estão em constantes modificações, a fim de se fraudar procedimentos de triagens toxicológicas (PINTORI, 2017). De acordo com essas mudanças estruturais e maiores afinidades com os receptores, são caracterizadas três gerações de canabinoides sintéticos. A primeira geração são agonistas CB₁ e CB₂, porém com maior afinidade que o THC e ação estimulante da dopamina. A segunda geração é também caracterizada por uma maior afinidade aos receptores, se diferenciando dos de primeira geração somente pela estrutura química. Por fim, a terceira geração é a classe mais recente e pode ser ainda mais potente como agonista do receptor CB₁ se comparada aos de primeira e segunda gerações (BOISSELIER *et al.*, 2017, TAI e FANTEGROSSI, 2014)

Considerando o número crescente de novas substâncias sintetizadas, consumo e potencial tóxico, é imprescindível o desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas de análise qualitativa e quantitativa dos canabinoides sintéticos e seus metabólitos. Matrizes biológicas como sangue total, urina, fluido corporal, soro e cabelo podem ser utilizados na análise forense dessas substâncias (SANTOS, 2018). Necessitam de uma etapa prévia de tratamento uma vez que as amostras biológicas contêm proteínas, sais, bases, lipídios, carboidratos e/ou compostos orgânicos, às vezes quimicamente similares aos analitos, que devem ser removidos, para que não interfiram nos resultados (SEELY, *et al.*, 2012; ROSADO, *et al.*, 2018).

Por fim, após a etapa de pré-tratamento da amostra, métodos de confirmação são empregados, dentre os métodos descritos na literatura para se detectar canabinoides sintéticos e seus metabólitos secundários, encontram-se a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas e a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa, capazes de identificar a presença de tais substâncias em diferentes matrizes (WOHLFARTH, *et al.*, 2014).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Realizar levantamento bibliográfico sobre os principais métodos de identificação de compostos canabinoides sintéticos utilizados como drogas de abuso e seus potenciais efeitos na saúde humana.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar levantamento bibliográfico sobre os principais canabinoides sintéticos comercializados no mundo e no Brasil;
- Avaliar o perfil de consumo e distribuição dessas substâncias;
- Discutir sobre os riscos de exposição a estas drogas e seus potenciais efeitos toxicológicos;
- Levantar e discutir metodologias para detecção e análise desses canabinoides em diferentes tipos de matrizes biológicas.

3. METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão bibliográfica do tipo narrativa utilizando as bases de dados PUBMED, WEB OF SCIENCE, SCOPUS, SciELO, além de teses e dissertações sobre o tema. O período da análise compreendeu artigos incluídos em um intervalo de tempo de 2000 a 2021.

Foram utilizados os descritores de assunto “*cannabis*”, “*synthetic cannabinoids*”, “*nonclassical cannabinoids*”, “*synthetic cannabinoids analysis*”, “*herbal blends*”, “*new psychoactive substances*”, “*spice*”, “*smoking mixture*”, “*psychosis cannabis*”, “*synthetic cannabinoid toxicology*”, “*analysis methods for detection of synthetic cannabinoids*”, “*biological matrices*”, “*protein precipitation*”, “*enzymatic hydrolysis*”, “*liquid-liquid extraction*”, “*salting-out assisted liquid-liquid extraction*”, “*solid Phase Extraction*”, “*gas chromatography/mass spectrometry*”, “*liquid Chromatography/mass spectrometry*” em inglês e português.

4. DESENVOLVIMENTO

A busca por drogas recreativas tem se tornado cada vez mais frequente por adolescentes e jovens adultos de várias partes do mundo, principalmente em países onde há um certo grau de tolerância em relação à posse e consumo destas substâncias.

Dentre elas, a maconha, droga extraída da planta *Cannabis sativa* (figura 1), é a mais consumida, de forma recreativa, em nossa sociedade (terceira, se o tabaco e o álcool são considerados) tanto para uso recreativo (cannabis natural e canabinoides sintéticos), quanto para uso médico (cannabis medicinal) (PAPASEIT, *et al.*, 2018). Segundo Rang e Dale (2016), o interesse medicinal veio à tona com a identificação do canabinoide natural, Δ^9 -tetra-hidrocanabinol (THC), principal componente ativo, dentre os compostos canabinoides (CB) encontrados na planta.



Figura 1 - A planta *Cannabis sativa*. Fonte: BYNUM, 2014

Os compostos canabinoides são substâncias seletivas que possuem como alvos, determinados receptores canabinoides específicos, presentes em nosso cérebro e em células do sistema imunológico periféricos, denominados CB₁ e CB₂, respectivamente. Esses receptores pertencem à superfamília dos receptores acoplados à proteína G, com sete domínios transmembranares (COSTA, 2011). O mecanismo de transdução dos sinais dos receptores CB, envolve vias com a participação da proteína G_{i/o}, inibindo a adenilil ciclase e ativando quinases, e no caso dos receptores CB₁, ainda modulando canais iônicos (LUTZ, 2002).

4.1. Tipos de canabinoides

Além dos canabinoides naturais, podem interagir com os receptores CB os canabinoides endógenos e os canabinoides sintéticos (GURDAL, 2013).

4.1.1. Canabinoides endógenos e naturais (fitonacabinoides)

Em 1990, foram realizadas diversas pesquisas sobre os receptores CB₁ e CB₂. Baseando-se no modo de ação destes receptores descobriu-se dois principais agonistas endógenos dos receptores CB: a N-araquidonoil etanolamina (Anandamida ou AEA) e a 2-araquidonoil glicerol (2-AG), sendo atualmente designadas como endocanabinoides (figura 2) (MATOS, *et al.* 2006).

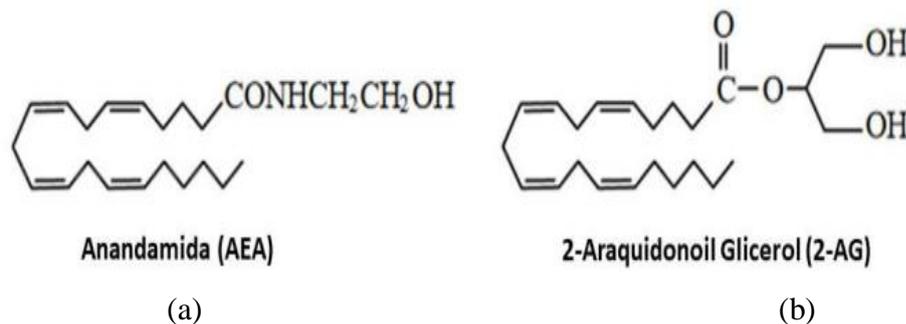


Figura 2 - Estruturas dos principais endocanabinoides: (a) Anandamida e (b) 2-araquidonoil glicerol. Fonte: SAITO, *et al.* 2010.

Os endocanabinoides são sintetizados, porém não são armazenados em vesículas, como acontece com os neurotransmissores, como a adrenalina, por exemplo. Após o influxo de cálcio nos neurônios pós-sinápticos, a fosfolipase D (para Anandamida) e diaciglicerol lipase (para 2-araquidonoil glicerol) são ativadas convertendo assim os fosfolipídeos em endocanabinoides (SAITO, 2010). Estes são liberados na fenda sináptica e se difundem livremente para estimular os receptores CB₁ (MATOS *et al.*, 2006), como mostra a figura 3.

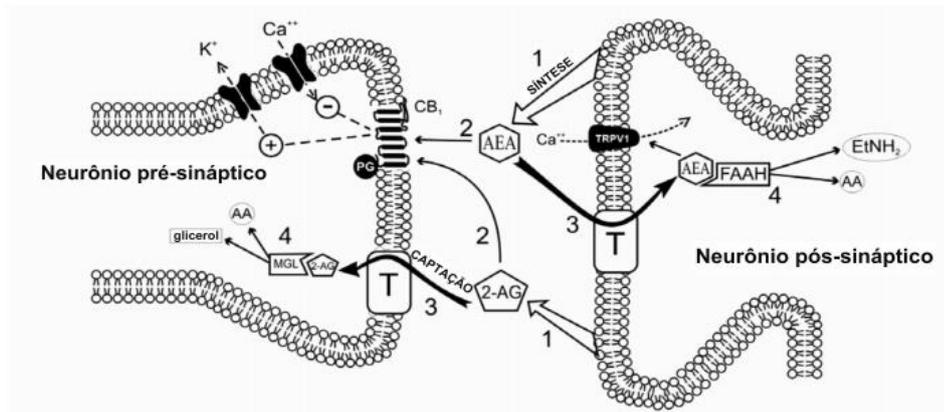


Figura 3 - Representação esquemática da ação endocanabinoide nos neurônios pré-sinápticos e pós-sinápticos. Fonte: SAITO, *et al.*, 2010.

Já os fitocanabinoides são compostos produzidos pelas plantas do gênero *Cannabis* (NIAZ *et al.*, 2017). Dentre os principais, estão o THC, que é o canabinoide responsável pelo efeito psicoativo, e os não psicoativos: canabinol (CBN), canabidiol (CBD) entre outros (FERNANDES, 2013) (figura 4).

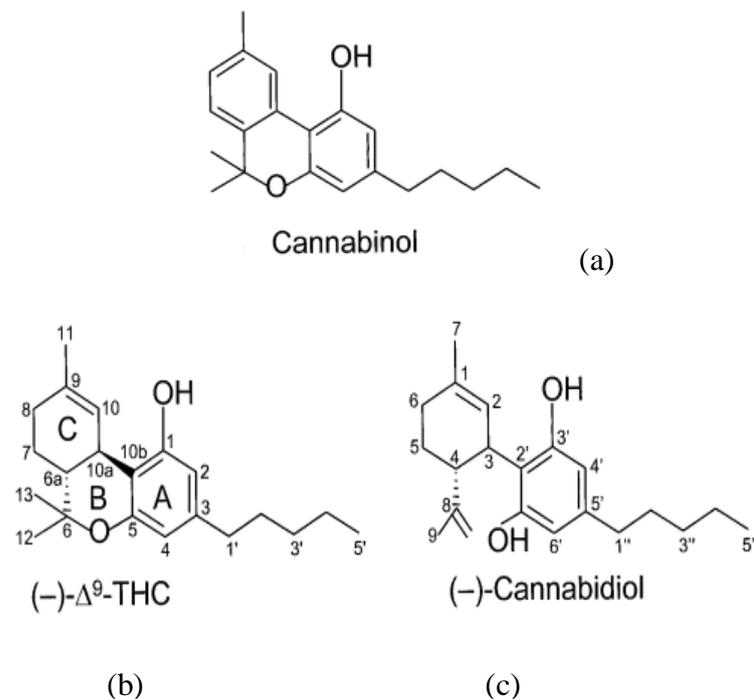


Figura 4 - Representação estrutural dos fitocanabinoides: (a) canabinol; (b) THC e (c) canabidiol. Fonte: HOWLETT *et al.*, 2002

Como dito anteriormente, os fitocanabinoides também são capazes de interagir com os receptores canabinoides endógenos (GROTENHERMEN, 2004). O THC atua como um

agonista parcial e exerce atividade excitatória e inibitória, em diferentes áreas do cérebro, e não somente em receptores canabinoides específicos (PERTWEE, 2008). O CBD apresenta baixa afinidade pelo CB₁, e atua como agonista inverso no receptor CB₂ (ZUARDI, 2008).

4.1.2. Canabinoides sintéticos (CS)

Esta classe desperta interesse para pesquisas acadêmicas e para a indústria farmacêutica, como é o caso do fármaco Dronabinol utilizado no medicamento Marinol® (figura 5) que tem o uso terapêutico reconhecido e baixo potencial para causar dependências. Interagem com os receptores canabinoides CB₁ e CB₂, e são seus antagonistas (SOUZA, 2017). O Marinol®, na forma de cápsula de 5 mg do ativo Dronabinol é autorizado, pela autoridade sanitária dos Estados Unidos, o Food and Drug Administration (FDA) para o alívio das náuseas causadas pela quimioterapia no tratamento do câncer, além de amenizar a perda de apetite associada à AIDS (SILVA, 2017; SOUZA, 2017).

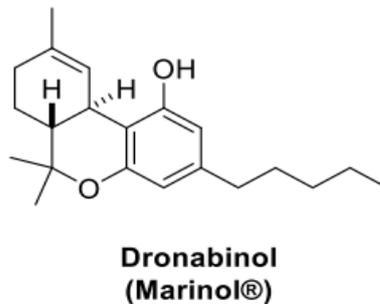
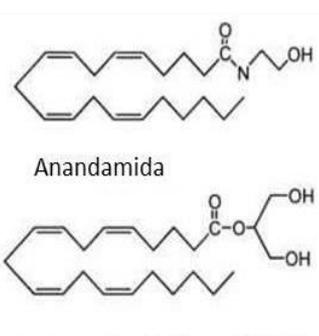
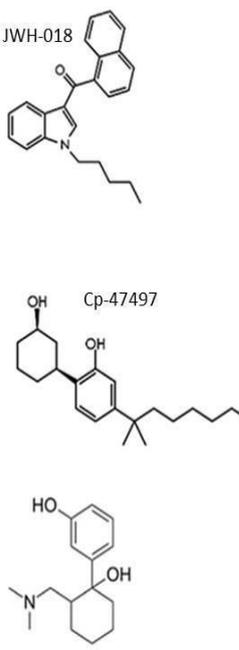
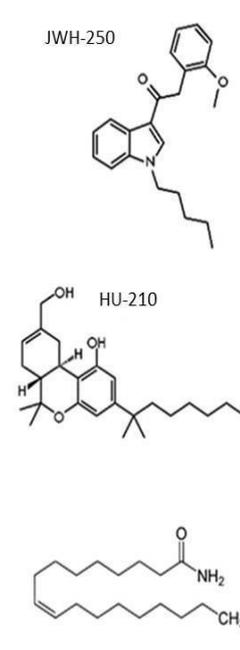


Figura 5 - Estrutura química do fármaco Dronabinol. Fonte: adaptado de SOUZA, 2017.

Em meados da década de 2000, CS tornaram-se populares devido à fácil acessibilidade, efeitos psicoativos potencializados e a não identificação pela urina, através de exames laboratoriais de rotina (ZNALEZIONA *et al.* 2015). Apesar de atuarem nos mesmos receptores dos fitocannabinoides e dos endocannabinoides, são estruturalmente diferentes daqueles (quadro 1).

Endocanabinoides	Fitocanabinoides	Canabinoides sintéticos	
 <p>Anandamida</p> <p>2-Araquidonilglicerol (2-AG)</p>	 <p>Delta-9-Tetrahydrocannabinol (THC)</p>	 <p>JWH-018</p> <p>Cp-47497</p> <p>O-Desmetiltramadol</p>	 <p>JWH-250</p> <p>HU-210</p> <p>Oleamida</p>

Quadro 1 - Comparativo entre as estruturas dos fitocanabinoides, endocanabinoides e canabinoides sintéticos.
Fonte: adaptado de ZUARDI et al., 2008.

Segundo Fattore e Fratta (2011), os CS foram detectados em misturas de ervas indicadas para serem fumadas, ou utilizadas como incenso. São rotulados por conter apenas mistura de ervas e, embora esses produtos não contenham tabaco ou *cannabis*, quando fumadas, produzem efeitos semelhantes ou mais potentes do que os do THC (FATTORE E FRATTA, 2011). Este efeito potencializado pode ser devido ao fato de que o THC é um agonista fraco e parcial do receptor canabinoide CB₁, enquanto os CS atuam como agonistas potentes e completos do mesmo receptor. Desta forma, a atividade intrínseca no CB₁ é maior para canabinoides sintéticos do que para o THC (FATTORE, 2016)

De acordo com Cho (2019), desde 2004, esses compostos sintéticos têm sido amplamente vendidos em muitos países europeus inclusive pela internet, sem prescrições médicas ou restrições legais (EMCDDA, 2017). Podem ser encontrados em sites ou em “lojas físicas” sob as mais variadas designações como “*Spice Gold*”, “Fogo”, “Aroma de Yucatan”, “*Spice*”, “*Spice Diamond*”, “*Arctic Spice*”, “*Silver*”, “Aroma”, “K2”, “*Genie*”, “*Scene*”, “*Dream*”, dentre outros (figura 6). Uma única embalagem pode conter cerca 3 g de uma

composição chamada de ervas, com aproximadamente 0,5-1,5% de componente ativo, o que corresponde a 30 mg do componente ativo por embalagem com uma grande variação dentro de um mesmo lote ou até mesmo dentro da mesma embalagem (MEDRANO, *et al.*, 2017).



Figura 6 - Produtos comercializados contendo canabinóides sintéticos sob os mais variados nomes e embalagens. Fonte: adaptado de MEDRANO, 2017.

Estas embalagens podem conter ervas que foram processadas juntamente com produtos químicos, como por exemplo, plantas contendo canabinoides sintéticos impregnados. Estes compostos são misturados com o material vegetal ou polvilhados sobre este, normalmente numa escala industrial, utilizando solventes como a acetona ou o metanol para dissolver os pós (HENRIQUES, 2018).

4.2. Aspectos estruturais e químicos dos CS

4.2.1. Classificação química

A proposta inicial do desenvolvimento dos CS se relacionava com o uso terapêutico, não com consumo abusivo (WILEY *et al.*, 2016). O primeiro CS a ser identificado foi o JWH-018 (1-pentil-3-(1-naftoil) indol), recebeu esse nome devido à descoberta da molécula WIN 55,212-2 (figura 7), um aminoalquilindol, que se liga aos receptores CB₁ e CB₂ com maior afinidade do que o THC (PINTORI *et al.* 2017). A partir desta molécula, John W. Huffman, substituiu o grupo aminoalquilo por uma cadeia alquilo, conferindo a síntese de análogos que possuíssem as mesmas características do JWH-018 (PAPASEIT, *et al.*, 2018).

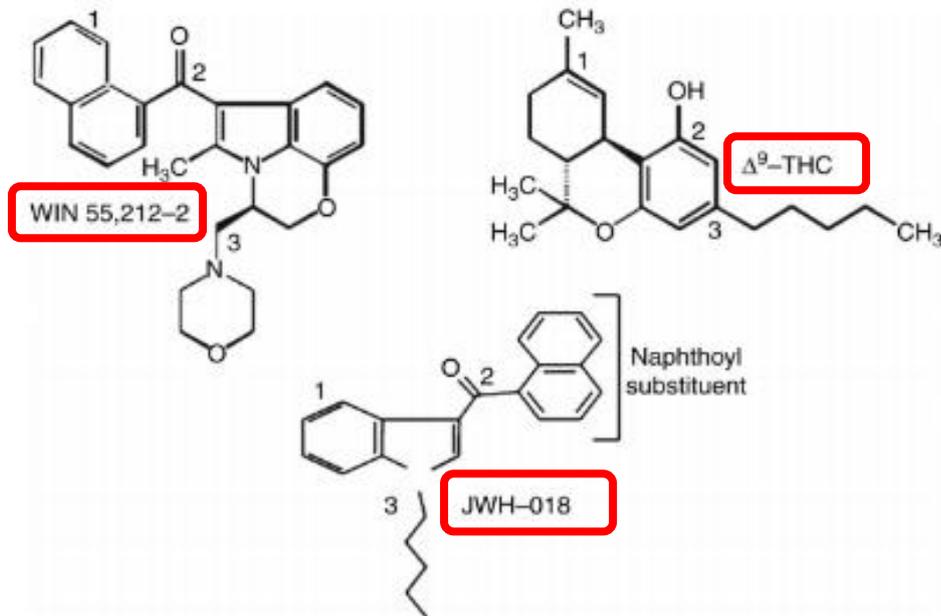


Figura 7 -- Estruturas químicas do WIN 55,212-2, THC e JWH-018. Fonte: adaptado de BURROWS *et al.*, 2017.

4.2.2. Estrutura química

Normalmente, os CS recebem a nomenclatura de acordo com sua estrutura química. Por exemplo, o composto nomeado **APICA**, tem a seguinte nomenclatura: N-(1- Adamantil) - 1-Pentil-1H-Indazole-3-CarboxAmida) (figura 8). Isto permite identificar a estrutura química do canabinoide sem que seja necessário expor o nome químico completo (EMCDDA, 2017).

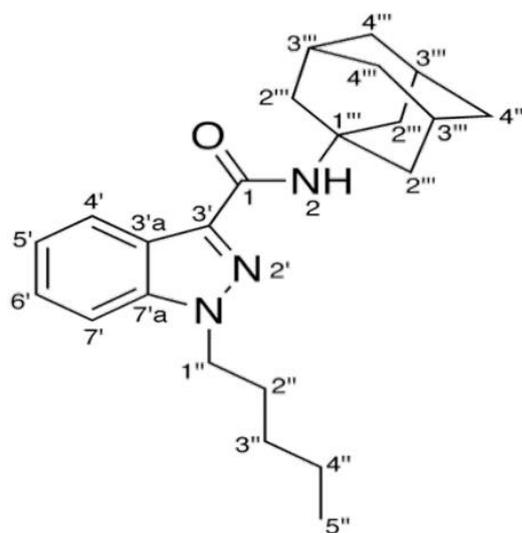


Figura 8 - Estrutura química do N-(1-Adamantil) -1-Pentil -1H-Indazole-3-CarboxAmida. Fonte: adaptado de AMATO *et al.* 2014.

Atualmente, são caracterizadas três gerações de CS. A primeira geração foi a pioneira em relação à produção, são agonistas CB₁ e CB₂, porém com maior afinidade que o THC e ação estimulante da dopamina (BOISSELIER *et al.*, 2017, TAI e FANTEGROSSI, 2014). Inclui os derivados JWH-018, CP-47,497 e HU-210 (figura 9) (SANTOS, 2018).

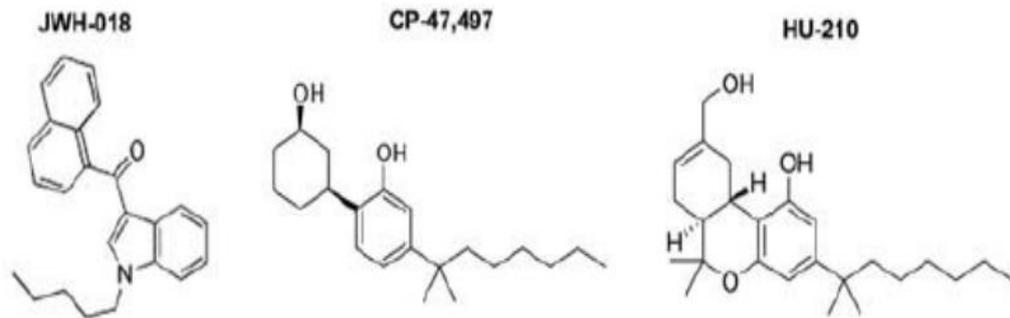


Figura 9 - Estruturas químicas de alguns canabinoides sintéticos pertencentes à primeira geração. Fonte: adaptado de SANTOS, 2018.

A segunda geração é também caracterizada por uma maior afinidade aos receptores, se diferenciando dos de primeira geração somente pela estrutura química. (BOISSELIER *et al.*, 2017). Corresponde aos derivados alquílicos, N-metilpiperidinas e benzoilindóis (Figura 10) (SANTOS, 2018).

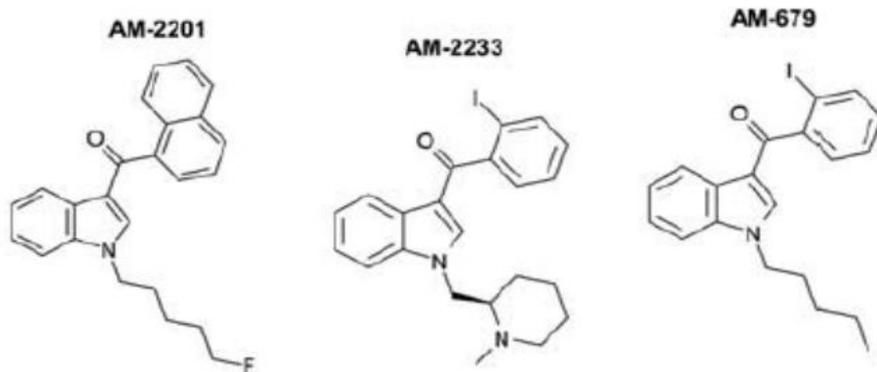


Figura 10 - Estruturas químicas de alguns canabinoides sintéticos pertencentes à segunda geração. Fonte: adaptado de SANTOS, 2018

Por fim, a terceira geração é a classe mais recente e pode ser ainda mais potente como agonista do receptor CB₁ se comparada aos de primeira e segunda gerações (TAI e FANTEGROSSI, 2014). Possuem o anel indólico substituído por um grupo indazol ou benzimidazol. Ainda corresponde à essa geração, compostos onde o grupo carbonilo é

substituído por um grupo carboxílico ou carboxiamida, ou quinolonas com uma estrutura secundária cíclica e grupos nitrogenados (SANTOS, 2018) (figura 11).

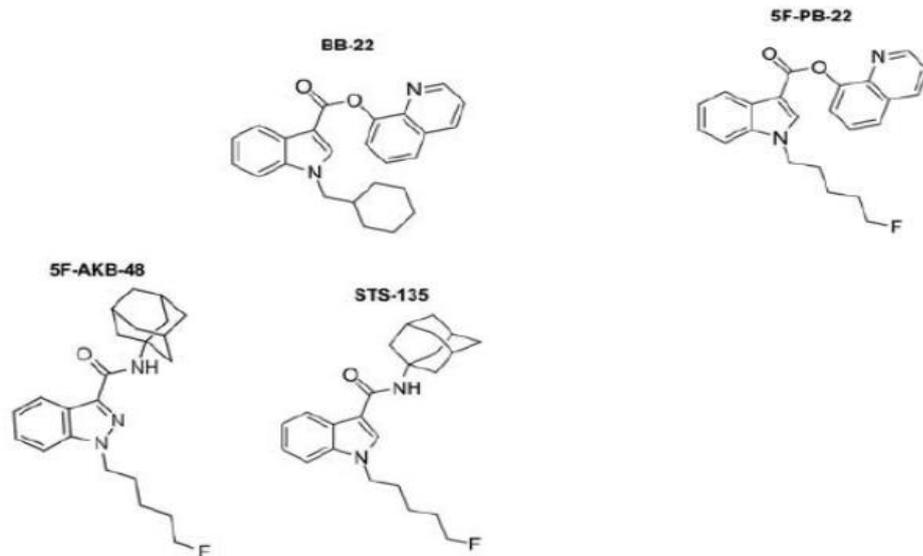


Figura 11 - Estruturas químicas de alguns canabinoides sintéticos pertencentes à segunda geração. Fonte: adaptado de SANTOS, 2018.

4.3. Aspectos farmacológicos e toxicológicos dos CS

Por se tornar popular somente na última década, o conhecimento sobre a toxicocinética dos CS ainda é restrito, porém, de acordo com dados fornecidos pela literatura, sabe-se que é possível que exista uma concentração sérica letal para essa droga (FREUND E BANNING, 2017).

4.3.1. Absorção

A biodisponibilidade dos CS vai depender do modo de administração (SANTOS, 2018). Assim como para a maconha, a forma mais usual de administração dos CS é por inalação (fumada). Por esta via, os efeitos psicotrópicos manifestam-se entre segundos a minutos. A droga é rapidamente absorvida pelos pulmões e distribuída para outros órgãos, como o cérebro, por exemplo (UNODC, 2011; RIBEIRO, *et. al.*, 2014). Também pode ser inalada por meio de vaporizadores e cigarros eletrônicos (MEYER, 2016). Após inaladas, concentrações máximas de cerca de 10 µg/mL são atingidas rapidamente no sangue, decaindo rapidamente, podendo, no entanto, ser detectáveis por horas ou dias. O composto JWH-018, por exemplo, é detectável até 48 horas após consumo (CASTANETO, *et. al.*, 2015).

Outro método usual de consumo dos CB é a administração oral. Quando ingeridos, sofrem metabolismo de primeira passagem hepática (UNODC, 2011). Este processo ocorre quando um fármaco ou droga, após a ingestão, é transportado pelo sistema porta até o fígado, onde pode ser biotransformado em metabólito secundário mais ativo que o original ou biotransformar em metabólito inativo (GOLAN, 2014) (figura 12).

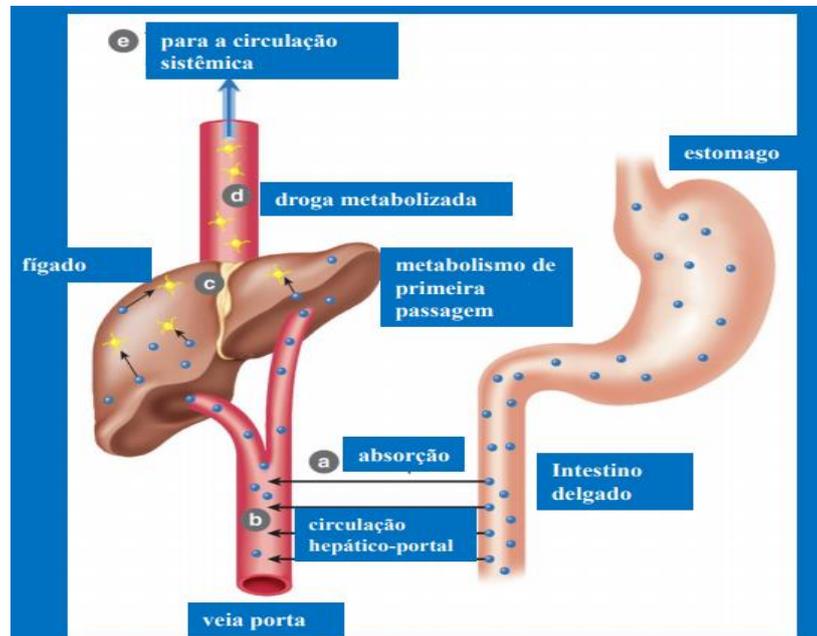


Figura 12 – Esquema demonstrando o metabolismo de primeira passagem. Fonte: Adaptada de CASADIEGO, 2014.

Existem também outras vias de administração, como a via oftálmica, em que se encontra um pico de concentração após uma hora de aplicação; sublingual, que tem os efeitos relativamente mais rápidos do que o oftálmico, devido à alta vascularização das mucosas desta região. E ainda, a administração retal, que possui uma biodisponibilidade muito variável, dependendo das características dos supositórios utilizados (CASADIEGO, *et.al.*, 2014).

4.3.2. Distribuição

Os CS são compostos altamente lipofílicos o que permite fácil penetração pela barreira hematoencefálica, além disso, se consumidos de forma crônica, podem acumular-se no tecido adiposo, prolongando sua permanência no organismo (UNODC, 2011; FATTORE, 2016). Assim, órgãos como cérebro, pulmões e rins apresentam concentrações elevadas dos CS, quando essas drogas são consumidas. Por outro lado, os níveis da droga na corrente sanguínea

decrecem rapidamente, devido à redistribuição para órgãos que possuem elevado teor de gordura, como os ditos acima (GOMES, 2013).

4.3.3. Metabolismo

A eliminação de um xenobiótico pode ocorrer por meio de dois processos: metabolismo e excreção. O metabolismo geralmente envolve dois tipos de reações, denominados de reações de fase I (oxidação, redução e hidrólise) e reação de fase II (conjugação). Frequentemente, ocorrem de modo sequencial. Ambas as fases, diminuem a lipossolubilidade da molécula proporcionando, assim, uma melhor excreção (RANG & DALE, 2016).

Os metabólitos secundários podem ser inativos ou ativos em relação à substância de origem. Há casos, em que o metabolismo leva à bioativação e conseqüentemente à ocorrência de efeitos adversos tóxicos (DIAO E HUESTIS, 2016; PEREIRA, 2007). Brabanter e colaboradores (2013) realizaram um estudo *in vitro* e *in vivo* cujo objetivo foi caracterizar o perfil metabólico dos CS. Segundo o estudo, estes compostos sofrem oxidação mediada por enzimas do sistema citocromo P450 hepático (CYP450) e posterior conjugação com o ácido glucurônico pelas glucuronosiltransferases (BRABANTER, *et. al.*, 2013; FANTEGROSSI *et al.*, 2014).

Como exemplo, pode-se ilustrar com o caso do CS JWH-018. Sabe-se que este composto sofre uma oxidação através das isoenzimas CYP2C9 e a CYP1A2 formando o metabólito ativo JWH-018 4-hidroxi-indol, como apresentado na figura 13 (STRECK *et. al.*, 2015). A CYP2C9 é expressa no intestino, é provável que esteja envolvida no metabolismo de CS que sejam administrados oralmente. Já a CYP1A2, que se encontra no pulmão, pode ser importante no metabolismo de CS quando estes forem inalados (FANTEGROSSI *et al.*, 2014).

Ao passar pela reação de fase I, oxidação, o JWH-018 tem seu anel indol ou cadeia N-alquílica oxidados, formando compostos mono-hidroxilados, que são excretados via urinária na forma de conjugados glucoronídeos de fase II (WINTERMEYER *et al.*, 2010). Este metabólito ativo JWH-018 4-hidroxi-indol, sofre posterior conjugação mediada pelas glucuronosiltransferases, formando o respectivo conjugado glucuronídeo como mostra a figura 13 (TAI E FANTEGROSSI, 2016).

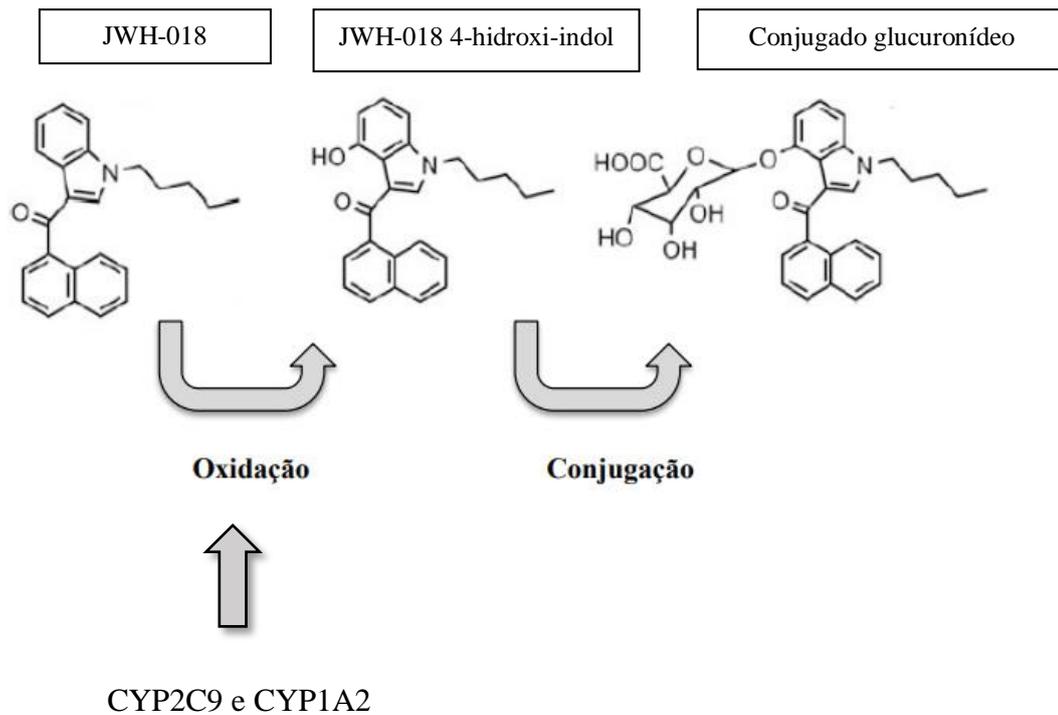


Figura 13 - Metabolismo do canabinoide sintético JWH-018. Fonte: Adaptado de Tai e Fantegrossi, 2016.

O JWH-200, é outro CS com metabolismo relativamente elucidado. Os metabólitos secundários existentes deste CS podem ser formados por hidroxilação e desidratação do composto primário como demonstrado na figura 14 (BRABANTER *et al.*, 2013). O metabolismo de outros canabinóides da classe JWH, como o JWH-250, forma-se metabólitos através de reações de: mono-hidroxilação e di-hidroxilação de resíduos aromáticos e alifáticos do composto primário; tri-hidroxilação e desidratação da cadeia N-alquílica; N-desalquilação e mono-hidroxilação (GRIGORYEV *et al.*, 2013).

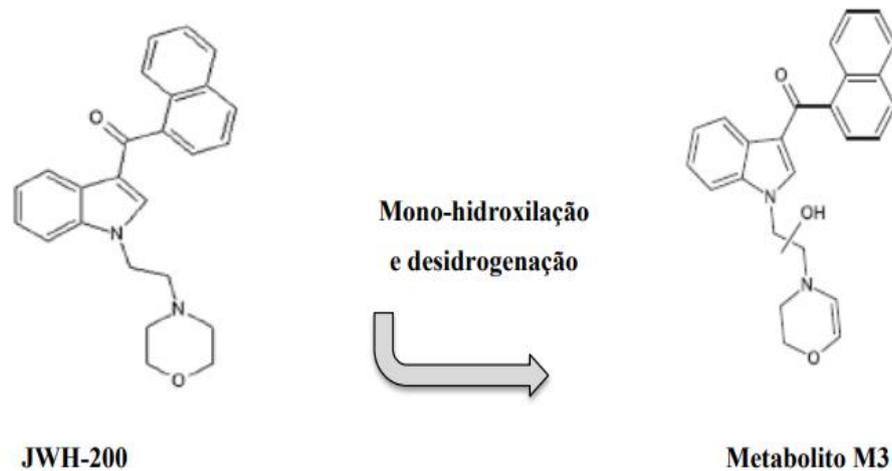


Figura 14- Metabolismo do canabinoide sintético JWH-200, sendo M3 um dos possíveis metabólitos formados. Fonte: Adaptado de Brabanter *et al.*, 2013.

Dentro da classe dos naftoilindóis, CS como o PB-22 podem sofrer uma hidroxilação seguida de uma carboxilação e posterior hidrólise do éster, formando o metabolito 1-pentil-1-OH-indol-3-ácido carboxílico-N-pentanóico. Do mesmo modo, o composto 5F-PB-22 ao sofrer uma hidrólise do éster, seguida de uma desalogenação oxidativa com uma carboxilação, logo adiante, convertendo-se no mesmo metabolito, 1-pentil-1-OH-indol-3-ácido carboxílico-N-pentanóico (figura 15) (CASTANETO *et al.*, 2015).

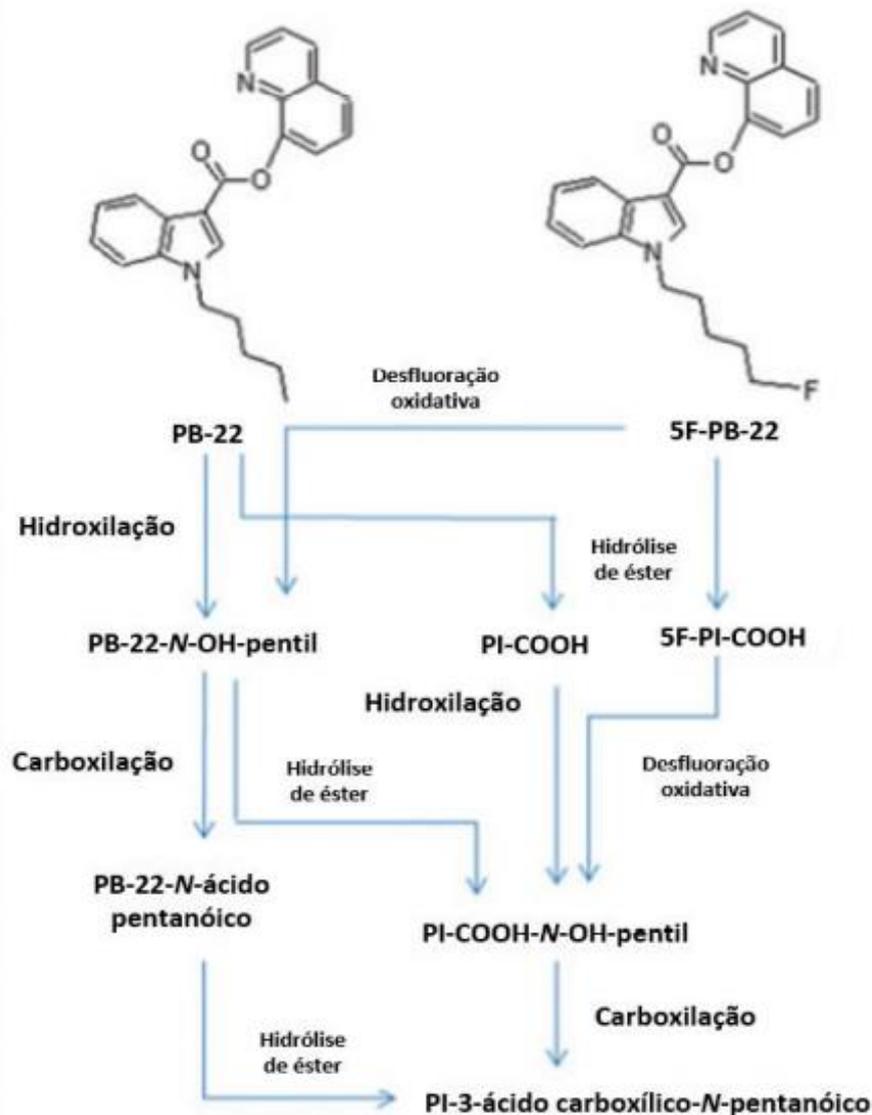


Figura 15 - Metabolismo dos canabinóides sintéticos PB-22 e 5F-PB-22, correspondendo ao 1-pentil-1H-indol-3-ácido carboxílico. Fonte: Adaptado de Castaneto *et al.*, 2015).

O metabolismo dos CS é bastante amplo pois alguns compostos primários podem ser metabolizados em mais de um metabolito secundário. Por exemplo, o CS 5'-OH-JWH-018 pode ser um metabolito do JWH-018 tendo ocorrido para a formação deste uma 5-hidroxição, mas também pode ser um metabolito do AM-2201 por desalogenação oxidativa (DIAO E HUESTIS, 2016).

4.3.4. Excreção

Os CS, são normalmente excretados por via urinária (uma pequena parte por via fecal), sob a forma de metabolitos glucuronídeos. A excreção predominante deste metabolito é devida a presença de mais grupos polares neste produto do que no composto de origem

(UNODC, 2011). Portanto, em amostras de urina de consumidores de CS, haverá altas concentrações de metabolitos glucuronídeos, sendo os metabolitos hidroxilados e carboxilados os mais prevalentes (SEMPIO *et al.*, 2017).

Desta forma, os CS geralmente não são detectados na forma original na urina e somente seus metabolitos glucuronídeos podem estar presentes ao serem excretados. Um estudo realizado por Hutter *et al.*, demonstrou que, após o uso do JWH-018, somente o ácido JWH-018-N-pentanóico, estava presente na urina a aproximadamente 0,1 ng/mL aproximadamente 48 horas após um único uso (HUTTER, *et al.*, 2012).

4.3.5. Efeitos Tóxicos

Como são agonistas dos receptores CB₁, os canabinoides sintéticos possuem maior afinidade aos receptores do que o THC e, por isso, seus efeitos psicotrópicos são potencializados (FATTORE E FRATTA, 2011).

Os efeitos adversos e intoxicações relacionados ao consumo destas substâncias, podem ser classificados sistematicamente de acordo com o quadro 2 abaixo:

Principais efeitos toxicológicos relacionado ao consumo de canabinoides sintéticos	
Cardiovasculares	Arritmias, cardiotoxicidade, enfarte do miocárdio, bradicardia.
Pulmonares	Pneumopatias, lesões pulmonares não específicas, infiltrados pulmonares difusos, hiperventilação ou apneia.
Digestivos	Dores abdominais, disfagia, lesões ulcerosas.
Hepatotóxicos	Aumento das enzimas séricas, falência hepática.
Oftalmológicos	Midríase ou miose, vermelhidão (dilatação dos vasos sanguíneos), fotossensibilidade.
Nefrotóxicos	Necrose tubular aguda, nefrite intersticial aguda (efeitos raros), aumento da creatinina, rabdomiólise.
Cerebrovasculares	Vasoespasma cerebral, hipotensão sistêmica com diminuição da autorregulação cerebral,

	eventos cerebrovasculares agudos, acidente vascular cerebral.
Psiquiátricos	Paranoia. Os canabinóides sintéticos têm um risco elevado de complicações psiquiátricas.
Dermatológicos	Escurecimento da pálpebra, emagrecimento e envelhecimento do rosto, notório na zona das bochechas, envelhecimento precoce da pele, acne, calvície precoce.
Neurológicos	Tremores, sensação de vertigens, ataxia, fasciculações, hipertonia, hiperflexão, hiperrefletividade, hiperextensão, midríase, nistagmo, discurso lento, desordem de consciência, perturbações na memória, confusão, hemorragias, acidentes vasculares, crises de epilepsia, perturbações cognitivas, euforia, riso fácil, percepção aumentada de estímulos externos alternando com sonolência e tonturas, uma diminuição da atividade psicomotora e sedação.
Musculares	Mialgia, espasmos musculares, rigidez muscular.
A nível de balanço energético	Distúrbios eletrolíticos, hipoglicemia, hipertermia.

Quadro 2 - Principais efeitos tóxicos dos CS. Fonte: adaptado de SANTOS, 2018.

Vardakou, *et al.*, em seu artigo, publicado em 2010, apontou observações feitas através de um estudo com injeções de doses repetidas de JWH-018 em ratos. Neste experimento, doses de 0,1 a 10mg/kg de rato, geraram estados de letargia, na concentração de 10 mg/kg, houve diminuição da respiração e uma morte (VARDAKOU, *et. al.*, 2010).

Em 2010, Auwarter *et al.*, fizeram um autoexperimento, com um tipo de produto à base de plantas, denominada de “*Spice Diamond*” a fim de se verificar a atividade farmacológica do CS em questão. Foi fumado um cigarro contendo 0,3 g de “*Spice Diamond*” e várias amostras de sangue e urina foram coletadas. Em aproximadamente 10 minutos após o

uso, efeitos como vermelhidão da conjuntiva foram notados, aumento dos batimentos cardíacos, depressão e distorção da realidade. Esses efeitos duraram por cerca de 6 horas após o uso, além de ainda serem percebidos durante todo o dia seguinte (AUWARTER *et al.*, 2010). Pode-se considerar este autoexperimento como tendencioso, uma vez que a mesma substância pode reagir de diferentes maneiras em cada organismo.

Em casos fatais, foram detectadas concentrações de substâncias no sangue dos seguintes canabinoides sintéticos: 0.1-199 ng/mL para o JWH-018, 0.1-68.3 ng/mL para o JWH-073, 12 ng/mL para o AM-2201, 1,1-1,5 ng /mL para o 5F-PB-22, e 12.4 ng/ml para o MAM-2201 (HARRIS *et al.*, 2012).

4.4. Consumo de CS no Brasil e no Mundo

Com o aperfeiçoamento das técnicas laboratoriais capazes de sintetizar e modificar as estruturas químicas de moléculas já existentes, novas substâncias têm sido identificadas e apreendidas em diversas partes do mundo. Entre 2005 e 2011, 164 novas substâncias psicoativas foram notificadas. Em 2011 foi detectado, pelo terceiro ano consecutivo, um número recorde de novas substâncias na Europa: 49, contra 41 em 2010 e 24 em 2009 (EMCDDA, 2012) (figura 16).

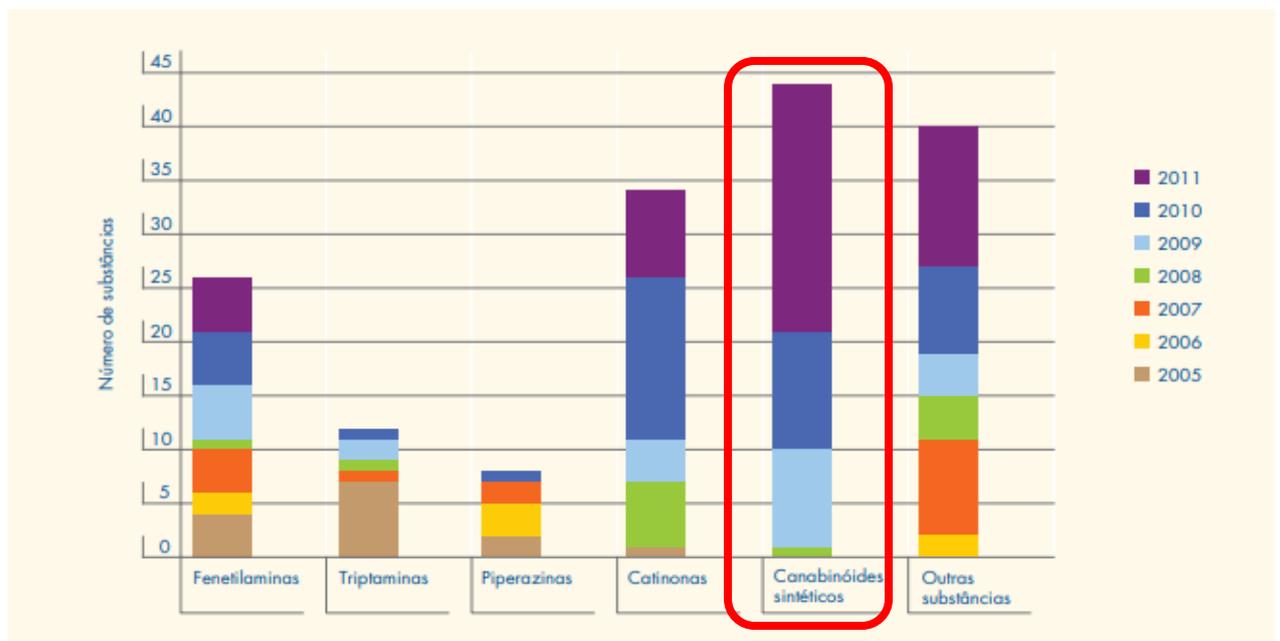


Figura 16 - Comparação entre os principais grupos de novas substâncias psicoativas identificadas por meio do mecanismo de alerta rápido desde 2005, na Europa. Fonte: adaptado de EMCDDA, 2012

Dados disponíveis através do relatório anual da EMCDDA, em 2012, mostram que a maioria das novas substâncias psicoativas que surgem no mercado europeu de drogas ilícitas são sintetizadas fora da Europa, sendo a China e, em menor grau, a Índia os seus principais países de origem (EMCDDA, 2012).

A prevalência do consumo dos CS é maior nos Estados Unidos da América (EUA). Um estudo realizado em 2014 nos EUA, por essa mesma instituição, intitulado de “*Monitoring the Future*”, mostrou que o consumo entre estudantes de 17/18 anos foi de 5,8%, comparativamente aos valores de 2013, que eram de 7,9%, e de 2012, de 11,3% (EMCDDA, 2017). Entre os militares americanos, a prevalência foi de 1,4% (290 amostras de urina positivas para CS, em um total de 20.017 amostras analisadas, por um período de 1 ano, entre 2011 a 2012) (BOISSELIER, 2017). Foi apontado que alguns militares fumam CS para se evitar a detecção em exames antidoping de rotina (CASTANETO *et al.*, 2014).

Ainda de acordo com pesquisas realizadas pelo EMCDDA, na Europa, mais precisamente no Reino Unido, os valores encontrados foram de 0,2% em 2010/2011 e 0,1% em 2011/2012. Na Espanha, em 2014, o consumo de drogas entre a população estudantil dos 14 aos 18 anos identificou níveis reduzidos de consumo de produtos como o “Spice”, com taxas de prevalência de 0,8 % para consumo ao longo da vida (EMCDDA, 2017). Na Noruega, 16 casos de CS foram detectados em um total de 726 amostras de sangue coletadas de motoristas noruegueses, durante 7 semanas.

Na França, os valores de consumo dos canabinoides sintéticos situam-se entre 1% e 1,7%, mostrando uma diferença significativa em relação aos EUA (SANTOS, 2018). A faixa etária que mais se consome essas substâncias corresponde às idades abaixo de 35 anos. Geralmente os usuários são do sexo masculino, que normalmente frequentam casas noturnas e possuem maior acesso à internet, onde o comércio de canabinoides sintético ocorre com maior facilidade (EMCDDA, 2017).

Já na Turquia, o Instituto de Medicina Forense do país, salientou que canabinoides sintéticos estavam dentre os narcóticos mais comuns confiscados pela polícia entre os anos de 2016 e 2017 (MATROUK *et al.*, 2019). Na Itália, durante investigações de amostras de urina positivas para canabinoide sintético, em 52,6 % (10 de 19 amostras) havia a presença de metabolitos de JWH-073 e em 47,4% (9 de 19 amostras) foi constatada a presença de metabolitos secundários de JWH-250 (GURDAL *et al.* 2013). Foi apresentado por Cho *et al.*, (2019) que na Coreia do Sul os canabinoides JWH-019, JWH-122, JWH203, JWH-250 E AM-

2201 são encontrados desde 2009. No Japão, o CS AB-CHMINACA foi detectado pela primeira vez em 2013 (CHO *et al.*, 2019).

Por fim, no Brasil, Clarice Sandi Madruga, psicóloga e professora afiliada da disciplina de Psiquiatria da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM/UNIFESP), coordenou o Global Drugs Survey (GDS) e, durante o estudo realizado em 2015, com a participação de 107.624 pessoas, foi detectado pela primeira vez o uso de JWH-018 no Brasil (SEMEAR, 2020). As prevalências mais altas foram observadas entre os indivíduos do sexo masculino, de 25 a 34 anos, solteiros, com níveis mais elevados de educação e maior renda. Observa-se mudança de faixa etária, sendo os mais jovens, com idade entre 15 e 24 anos, os maiores consumidores (LARANJEIRA, *et al.*, 2016).

De acordo com o aumento do consumo de CS em território brasileiro, a ANVISA, órgão responsável pela fiscalização da produção e consumo de produtos no Brasil, incluiu a substância JWH-018 na lista “F2” (Lista das Substâncias Psicotrópicas de Uso Proscrito no Brasil), como sendo o primeiro canabinoide sintético proibido no Brasil (ALVES, *et al.* 2012).

4.5. Métodos de análise para detecção de CS

Considerando o número crescente de novas substâncias sintetizadas, consumo e potencial efeito tóxico, é imprescindível o desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas de análise qualitativa e quantitativa que permitam o isolamento e identificação dos CS. O fato dessas substâncias estarem em constantes modificações químicas, representa um contratempo para os laboratórios de toxicologia (MAZZARINO *et al.*, 2014).

Essa diversidade nas modificações químicas e a frequência com que isso ocorre, faz com que os CS sejam compostos particularmente difíceis de se detectar e monitorar. No entanto, o seu consumo tem causado um elevado número de intoxicações graves e até mesmo de mortes, algumas das quais resultantes de intoxicações em massa. Portanto, para uma investigação toxicológica *post mortem*, quando houver histórico de abuso de drogas, é essencial constar no laudo a presença ou ausência de CS, a fim de se concluir se este foi a causa ou contribuiu para tal desfecho (LABAY *et al.*, 2015). Outrossim, análises toxicológicas no âmbito da fiscalização rodoviária são de grande relevância, uma vez que motoristas que fazem uso deste entorpecente, podem se apresentar confusos, lentos e desorientados (CHASE *et al.*, 2016).

As matrizes biológicas utilizadas para essas análises são: sangue total, urina, fluido corporal, soro e cabelo (SANTOS, 2018). Elas devem ser cuidadosamente selecionadas, colhidas, armazenadas e pré tratadas, a fim de se evitar que contaminantes interfiram nos

resultados (SEELY, *et al.*, 2012). Além disso, deve-se atentar também para o fato de que o tempo entre a coleta e o processamento da amostra pode resultar na deterioração do material e acarretar possíveis erros nas análises amostrais (AIRES, *et al.*, 2015).

4.5.1. Matrizes biológicas

4.5.1.1. Sangue

Uma amostra de sangue não é facilmente adulterada, portanto, o consumo recente dos canabinoides sintéticos pode ser detectado com certa facilidade, apesar da coleta ser mais invasiva, em relação a outras amostras como a urina, por exemplo (KERRIGAN, 2011). Em contrapartida, tanto o composto principal quanto os secundários, podem ser identificáveis (BERANKOVA *et al.*, 2006). Um estudo realizado por Seely e colaboradores, apontou que nesta matriz, alguns CS das subclasses dos naftoilindois, ciclohexilfenóis e benzoilindois, possuem meia-vida curta, indicando que o uso do sangue é mais apropriado em casos de intoxicação aguda. (JAGER, *et al.*, 2012; SILVA, 2017).

A amostra de sangue pode ser avaliada na forma de sangue total, plasma (que constitui do sobrenadante obtido do sangue adicionado de anticoagulante, com o conteúdo precipitado) ou o soro (que constitui o plasma sem os fatores de coagulação, podendo ser obtido pela centrifugação do sangue já coagulado). Se o objetivo da análise compreender a quantificação da droga é mais indicada a avaliação em amostra de sangue total, pois as drogas apresentam diferentes afinidades por proteínas e uma vez que apresentam considerável afinidade, podem ser descartadas se investigadas apenas em amostra de plasma ou soro. (BORDIN *et al.*, 2015)

4.5.1.2. Urina

A urina é a matriz mais tradicional e utilizada por ser de fácil coleta, com possibilidade de uma amostra de grande volume (KERRIGAN, 2011). É um ultrafiltrado do sangue formado continuamente pelos rins a partir do qual foram reabsorvidas substâncias essenciais ao metabolismo do organismo, como glicose, aminoácidos e água. É composta de substâncias químicas orgânicas como ureia, ácido úrico e creatinina e inorgânicas como íons cloreto e sódio, dissolvidas em água (BULCÃO *et al.*, 2012).

Como vantagem dessa matriz, pode-se citar a presença de muitos metabólitos uma vez que os CS são biotransformados rapidamente em metabólitos secundários, por isso, através da urina, se consegue diferenciar diferentes metabólitos, quando dois ou mais compostos primários com estruturas químicas semelhantes, como é o caso do JWH-015 e JWH-073 (figura 17). O período de detecção é somente após a metabolização e, dependendo do método, uma etapa adicional na análise, hidrólise - que pode ser enzimática e que é extremamente cara, ou alcalina, que apesar de mais barata apresenta maior degradação de compostos menos estáveis, pode ser necessária, mas representa um risco para a detecção dos CS. Não é uma boa opção para realizar experimentos de toxicocinética pois para fazer amostragem de vários tempos de coleta, o voluntário terá que urinar em intervalos muito curtos, como de 5 em 5 minutos, e se isso não ocorrer de maneira padronizada em todos os voluntários pode inviabilizar o estudo (MAZZARINO, *et al.* 2014; CLAUWAERT *et al.*, 2001).

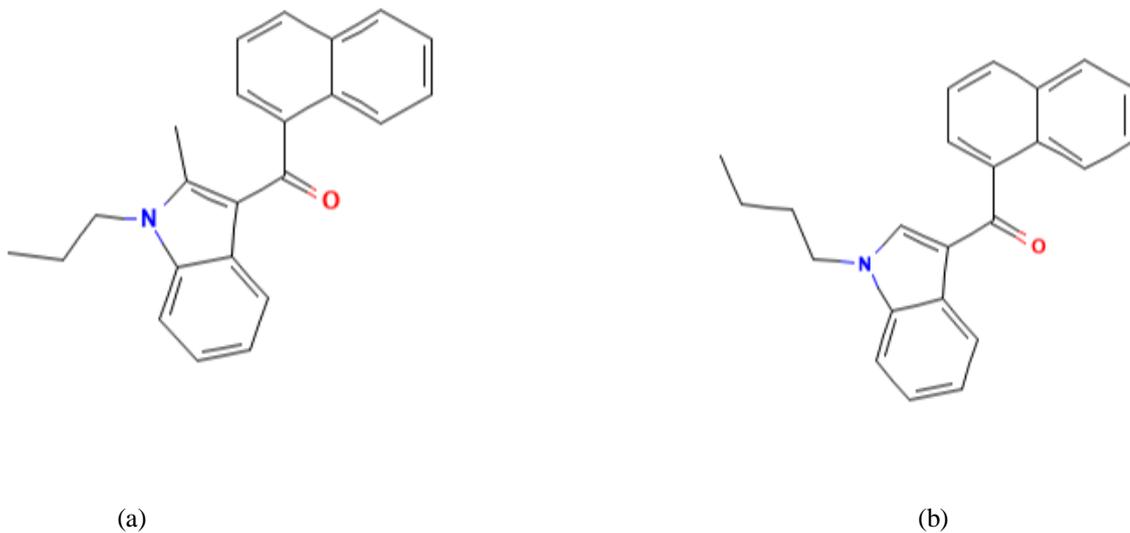


Figura 17 - Estruturas dos canabinoides sintéticos a) JWH-015 e b) JWH-073. Adaptado de Pubchem.

4.5.1.3.Fluido Oral

Fluido oral é uma mistura de células da mucosa bucal, restos de alimentos, e saliva, secretada pelas glândulas presentes na mucosa bucal (BORDIN, *et al.*, 2015). Apesar da facilidade de ser coletada (podendo ser por expectoração), conferirá resultado positivo somente após consumo recente da substância (ELSOHLY *et al.*, 2011). Quando os CS são ingeridos por via oral ou inalados através de cigarros ou vaporizadores, podem ser detectados em altas concentrações após uso recente devido ao fármaco residual na cavidade oral. Sob estas circunstâncias, a interpretação pode ser afetada, porque a concentração encontrada no fluido

oral pode não refletir a concentração da droga no sangue (CROUCH, 2005). Além disso, a composição do fluido oral pode ser afetada por muitos fatores, incluindo restos alimentares e doenças bucais.

4.5.1.4.Cabelo

O cabelo apresenta uma larga janela de detecção, que possibilita detectar o tempo estimado do consumo de determinada droga. É uma coleta não invasiva, de fácil obtenção, e necessita de poucos cuidados no transporte e armazenamento. Porém, não é possível detectar o uso recente, de até uma semana, devido ao processo de incorporação na matriz queratinizada que pode levar dias (BORDIN *et al.*, 2015; COSTA, 2008).

Segundo Pragst e Balikova (2006), a incorporação de CS em cabelos ocorre da seguinte maneira: essas substâncias adentram no cabelo por meio de difusão passiva dos capilares sanguíneos para as células da matriz e para fim da zona de queratinização do folículo capilar. Podem passar também do suor e sebo da pele ao cabelo por meio de difusão (PRAGST; BALIKOVA, 2006; BORDIN *et al.*, 2015; COSTA, 2008).

Antes de ser analisada, a amostra passa por algumas etapas de descontaminação, que normalmente é realizada através de lavagens com água e solventes orgânicos (BORDIN, 2015). O uso de tinturas, tratamentos cosméticos como descoloração e permanentes podem afetar a estabilidade e retenção das drogas na matriz, pois estes causam danos a fibra capilar (GORDO, 2013; SILVA, 2017).

	Amostra			
	Saliva	Urina	Sangue	Cabelo
Coleta	Não invasiva	Não invasiva	Invasiva	Não invasiva em
Quantidade de amostra	1-5mL	> 50mL	até 10mL	media 100mg
Velocidade na coleta	minutos	minutos	minutos	minutos
Possibilidade de adulteração	baixa	alta	baixa	baixa
Concentração de droga	baixa	média a alta	média a alta	Baixa
Janela de detecção	baixa, semelhante ao sangue	moderada, mais alta que a do sangue	baixa	alta, em média semanas e meses antes da coleta

Tabela 1 - Comparação entre as matrizes biológicas. Fonte: adaptado de COSTA (2008); BORDIN *et al.* 2015.

4.5.2. Pré-tratamento das amostras

As amostras biológicas são constituídas de vários componentes endógenos que podem adsorver de forma irreversível junto à fase estacionária da coluna cromatográfica, diminuindo a eficiência da separação e reduzindo a resposta analítica. Desse modo, a etapa de preparo de amostra visa a eliminação de grande parte dos componentes endógenos e a pré-concentração dos analitos, quase sempre presentes em níveis de traços (GRECCO, *et. al.*, 2018)

Uma etapa de pré-tratamento em um estágio inicial do processo analítico é fundamental, uma vez que as amostras biológicas contêm proteínas, sais, bases, lipídios, carboidratos e/ou compostos orgânicos, às vezes quimicamente similares aos analitos, que devem ser removidos. Esses compostos naturalmente compõem a matriz, mas podem interferir no resultado, conferindo uma conclusão inexata e imprecisa (ROSADO, *et al.*, 2018). Por outro lado, os analitos podem estar em concentrações muito baixas na amostra, sendo muitas vezes necessária a escolha de procedimentos de preparo que, além de efetivos na eliminação de interferentes majoritários, sejam também capazes de pré-concentrar os analitos (KATAOKA, *et. al.*, 2002)

Os procedimentos mais comumente realizados nesse estágio inicial são precipitação de proteínas, hidrólise enzimática, extração líquido-líquido, extração líquido-líquido assistida por *salting-out* e extração em fase sólida (SANTOS, 2018).

4.5.2.1. Precipitação de proteínas (PPT)

Em se tratando de matrizes como sangue total, soro e plasma, este procedimento é bastante utilizado mesmo não removendo completamente as interferências por ser uma técnica rápida e simples (ALDLGAN *et al.*, 2016). Para se analisar CS os solventes precipitantes mais utilizados são acetonitrila e os ácidos perclórico e tricloroacéticos, sendo que a acetonitrila apresenta uma recuperação de 80% da amostra (WOHLFARTH, *et al.*, 2014; POLSON, *et al.*, 2003).

Essa precipitação de proteínas em matrizes biológicas se dá pelo fato de que a solubilidade das proteínas em solventes orgânicos, como a acetonitrila, é menor do que em água, pois a capacidade de interação com as partículas de soluto é diferente para cada solvente. A grandeza que mede a capacidade de interação do solvente com o soluto é denominada constante dielétrica e a água apresenta constante dielétrica bastante elevada (aproximadamente 80). Numa solução contendo, exclusivamente, água e moléculas protéicas terá interação água - proteína e interação proteína-proteína. Os solventes orgânicos apresentam valor de constante

dielétrica bem inferior à da água, isso proporcionará uma maior interação proteína-proteína levando a sua precipitação (SOLOMONS, 2012).

Além de proporcionar um extrato limpo, acetonitrila é o solvente mais utilizado como um dos constituintes da fase móvel em cromatografia líquida e compatível com a detecção por espectrometria de massas. (GRECCO *et al.*, 2018)

4.5.2.2. Hidrólise enzimática

Técnica obrigatória em se tratando de amostras de urina quando analisada por espectrometria de massas, a fim de se detectar metabólitos de fase I, já que os canabinoides sintéticos, quando metabolizados são, em sua maioria, glucoronizados, principal reação de fase II em seu metabolismo (DIAO E HUESTIS, 2016). A hidrólise enzimática permite a hidrólise dos glucoronídeos presentes na urina, resultando, com isso, na determinação de seus metabólitos (BORG, *et al.*, 2016; SIMÕES, *et al.*, 2014).

De acordo com Sempio *et al.*, além da hidrólise enzimática, pode-se usar uma hidrólise alcalina, posteriormente, apesar de estar caindo em desuso ultimamente. Essa etapa subsequente, tem como função a quebra das ligações éter existentes nos glucoronídeos canabinoides. A hidrólise alcalina normalmente é feita com hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio, já a hidrólise enzimática, tem como principal enzima empregada a β -glucuronidase (SEMPPIO *et al.*, 2017).

A enzima β -glucuronidase (GUSB) pertence à família das hidrolases glicosídicas 2 (GH2) onde estão inseridas a β -galactosidase e β -manosidase (HASSAN *et al.*, 2013). Esta enzima catalisa ligações glicosídicas, hidrolisando ligações O-glicosil e S-glicosil entre dois ou mais carboidratos ou entre uma porção de carboidrato e não carboidrato de glicoproteínas, oligossacarídeos de glico-conjugados (WERNER *et al.*, 2010; MEGAZYME, 2019). Além disso, catalisa vários substratos como glicosaminoglicanos e outros conjugados de açúcar de ácido glucurônico de uma variedade de compostos para produzir ácido glucurônico e um álcool (BURCHETT *et al.*, 2015).

Segundo Júnior, 2019, esta reação ocorre quando a β -glucuronidase catalisa a reação do β -D-glucuronídeo que reage com a água, resultando em D-glucuronato + um álcool, como mostra a figura abaixo:

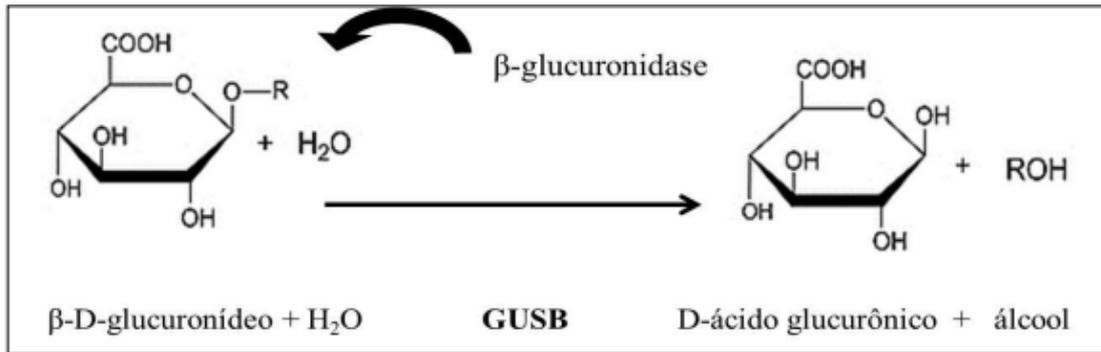


Figura 18 - Reação catalisada pela β -glucuronidase. (Adaptada de JUNIOR, 2019).

A β -glucuronidase pode ser encontrada nas *Escherichia coli* e tem papel fundamental no metabolismo, liberando os ácidos glucurônicos dos conjugados de açúcar para a produção de energia (WALLACE *et al.*, 2010; BURCHETT *et al.*, 2015)

4.5.2.3.Extração líquido-líquido (ELL)

CS são altamente lipofílicos, portanto, umas das técnicas mais utilizadas para a extração dessas substâncias nas matrizes é a extração líquido-líquido (NAMERA *et al.*, 2015). Esta extração é considerada um procedimento muito mais eficaz em relação ao método de precipitação da proteína, pois além de também remover proteínas, pode ser usado na extração de diferentes compostos (ALDLGAN *et al.*, 2016).

Essa técnica de extração consiste na adição de um solvente orgânico imiscível na amostra biológica, como por exemplo o clorofórmio, seguida de agitação, que favorece a migração do analito pelo solvente, formando duas fases líquidas separadas (NAMERA *et al.*, 2015). Essa técnica, também pode ser feita usando uma mistura de n-hexano/etilacetato (90:10) ou ainda apenas hexano (ZNALEZIONA *et al.*, 2015).

A escolha do solvente é baseada de acordo com sua polaridade, uma vez que os solventes polares extraem analitos polares com maior eficiência, quando comparados com a extração dos analitos apolares. Desta forma, para que um grande número de analitos, tanto polares quanto apolares, sejam extraídos, é importante que haja combinação de solvente com várias polaridades (JARDIM, 2010). Para minimizar esses problemas de solubilidade, na década de 90, Alpert introduziu a cromatografia por interações hidrofílicas (HILIC, do inglês hydrophilic interaction chromatography). A HILIC é uma modalidade de separação na qual é empregada uma FE mais polar do que em RP-HPLC e com pouca concentração de água ou tampão, sendo normalmente > 70% em solvente orgânico, tipicamente acetonitrila. Dessa forma, há a possibilidade de se explorar diferentes perfis de seletividade, o que permite a sua

aplicação em cromatografia líquida bidimensional abrangente com a finalidade de fornecer um maior poder de separação e distribuição dos analitos (SILVA, *et. al.*, 2015).

Outra característica importante é que o solvente deve ter alta pureza, pois a ELL é a técnica analítica mais utilizada na rotina toxicológica, em que o preparo da amostra é essencial nas análises cromatográficas. Ser imiscível em água, apresentar baixo ponto de ebulição, para que possa ser eficientemente removido no final do processo de extração, e baixa viscosidade, para possibilitar a perfeita interação com a matriz da amostra (DORTA, *et. al.*, 2018; OLIVEIRA, *et. al.*, 2005).

Por fim, em alguns casos, o valor da constante de distribuição, KD, entre as fases pode ser aumentado pelo ajuste do pH, para prevenir a ionização de ácidos ou bases, pela formação de par iônico com solutos ionizáveis, pela formação de complexos lipofílicos com íons metálicos ou pela adição de sais neutros, para diminuir a solubilidade de compostos orgânicos na fase aquosa (STRELAU, 2006)

4.5.2.4.Extração líquido-líquido assistida por *Salting-out* (SALLE)

Em um procedimento típico SALLE, um solvente orgânico miscível em água e uma solução concentrada de sal são adicionados à matriz biológica contendo o analito de interesse. Quando a concentração salina se torna muito alta, ocorre a diminuição da solubilidade das moléculas do solute na fase aquosa, levando à formação de um sistema bifásico. Este fenômeno é frequentemente chamado de “separação de fases induzida por sal” (GRECCO *et. al.*, 2018). Com a formação desse sistema bifásico, os analitos migram da fase aquosa em direção à fase orgânica. Dependendo do solvente, o extrato orgânico obtido pode então ser injetado diretamente no sistema cromatográfico principalmente junto à cromatografia líquida por interação hidrofílica (HILIC), ou na cromatografia líquida em fase reversa por simples diluição com solução aquosa ou solução tampão (GRECCO *et. al.*, 2018; MATOS, 2016; CASTANETO *et. al.*, 2015)

O que diferencia esta extração da extração líquido-líquido, é que esta utiliza água e solventes orgânicos miscíveis com água, induzindo a separação de fases pelo efeito *Salting-out* (RAMOS, 2014). Neste processo, adiciona-se um eletrólito, normalmente o cloreto de sódio e carbonato de cálcio, a uma solução aquosa, de forma que modifique o coeficiente de distribuição do soluto, alterando, com isso as forças de solvatação entre este e a água (RAMOS, 2014).

Como foi citado por Tang e Weng, em seu artigo, a técnica por *Salting-out* mostrou-se capaz de extrair uma infinidade de compostos, dentre eles os compostos polares de difícil extração por líquido-líquido e extração de fase sólida. A grande vantagem, é o uso reduzido de solventes, ao se comparar com as demais técnicas, além de não necessitar de agitação vigorosa, uma vez que o solvente é miscível em água (TANG E WENG, 2013).

4.5.2.5. Extração em fase sólida (SPE)

É uma técnica de preparo de amostras de grande importância, que está rotineiramente sendo empregada na extração de CS em matrizes complexas como sangue e seus derivados, cabelo, urina ou amostras de tecidos (hepático, renal, cerebral, disponíveis em análises toxicológicas *post-mortem*) (ALDLGAN, *et. al.*, 2016). Essa importância justifica-se pelo fato de que a SPE viabiliza a realização simultânea dos processos de purificação (*cleanup*) e pré-concentração (ou enriquecimento) do analito, por possibilitar a passagem de grande volume de amostra através da fase extratora polimérica, que irá reter seletivamente os analitos de interesse, tornando possível a passagem de interferentes da matriz, que serão descartados. Os analitos retidos poderão, então, ser eluídos utilizando-se pequena quantidade de solvente de eluição (OLIVEIRA, *et. al.*, 2005).

É uma técnica baseada no princípio de separação à base de afinidade como cromatografia em fase líquida, consistindo na separação líquido-sólido. Nas etapas dessa técnica incluem-se retenção e eluição de analitos do fluido biológico, remoção de interferentes e concentração da amostra. Tradicionalmente a SPE está disponível nos modos de fase normal, de fase reversa e de troca iônica; no entanto, um dos formatos mais utilizados é o de fase reversa (BORDIN, *et. al.*, 2015).

A fase reversa baseia-se na interação dos analitos com caráter polar presentes em meio aquoso (como urina e sangue) e uma fase extratora apolar. A interação entre a fase apolar e a fase sólida ocorre por ligações de *Van der Waals*, sendo utilizados solventes orgânicos apolares para eluição dos analitos retidos. Atualmente, fases extratoras poliméricas estão disponíveis comercialmente e são preparadas, por exemplo, a partir de monômeros de N-vinilpirrolidona e divinilbenzeno, que proporcionam bons rendimentos e extratos limpos (OLIVEIRA, *et. al.*, 2005). Os analitos contidos numa matriz aquosa são extraídos, juntamente com os compostos interferentes, após passarem por um cartucho contendo um sólido sorvente (BORDIN, *et. al.*, 2015; DIAO, 2016, MATOS, 2016; ALDLGAN *et al.*, 2016).

O fator de concentração é obtido pela razão entre o volume inicial de amostra aplicado no cartucho e o volume final de solução concentrada. A concentração pode ser aumentada por um fator de 100 a 5000, tornando possível a análise qualitativa e quantitativa a nível de traços (JARDIM, 2010).

Após a aplicação da amostra no cartucho, ocorre a lavagem da coluna com solventes para remoção de interferentes, onde ficará retido na fase extratora não apenas os analitos desejados, mas também alguns interferentes, que serão eliminados nesta etapa do processo. Para lavagem, é possível utilizar água, soluções tampão, ácidos ou bases diluídas ou, ainda, um solvente orgânico polar, como metanol ou acetonitrila. É fundamental que a solução utilizada na lavagem da coluna tenha força suficiente apenas para eluir os interferentes, mantendo os analitos retidos na fase sólida. Após a lavagem, a fase extratora deve ser seca pela passagem de ar através da fase extratora (de 2 a 10 min de vácuo), para que, todo o resíduo de água ou tampão seja, retirado (OLIVEIRA, *et. al.*, 2005)

Por último se tem a fase de eluição e coleta dos analitos. Esta etapa geralmente utiliza pequeno volume de solventes orgânicos para arrastar as substâncias, até então retidas na fase extratora. O solvente utilizado na eluição depende das características da fase extratora e do analito que está sendo extraído. Os solventes orgânicos utilizados na eluição evaporam, e o resíduo desta evaporação é reconstituído com um pequeno volume de solvente adequado para o método de análise empregado (SANTOS, 2018; ZNALEZIONA *et al.*, 2015)

Comparando-se com a ELL, esta técnica é mais vantajosa pois apresenta um menor consumo de solvente orgânico, não formação de emulsões, facilidade de automação, altas porcentagens de recuperação do analito, volumes reduzidos de resíduos tóxicos, capacidade de aumentar seletivamente a concentração do analito e disponibilidade comercial de muitos equipamentos e sorventes para extração de fase sólida (BORGES, *et. al.* 2007). Em contrapartida, apresenta como desvantagens o tempo elevado de análise, os altos custos dos cartuchos e dos dispositivos comerciais e, eventualmente, a dificuldade em selecionar o sorvente adequado para a aplicação desejada. Além disso, os cartuchos são utilizados uma única vez e, geralmente, há baixa reprodutibilidade de lote para lote de cartucho (NOVÁKOVÁ, *et. al.*, 2009; ZNALEZIONA *et al.*, 2015; ALDLGAN *et al.*, 2016).

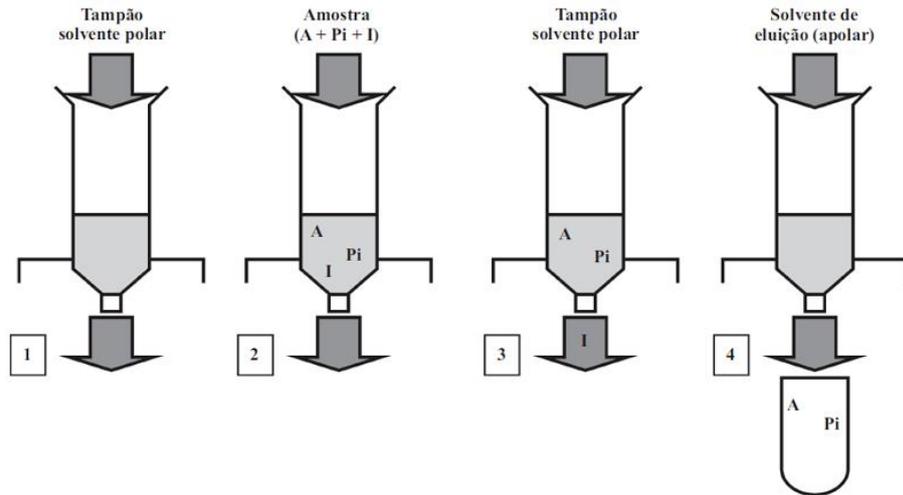


Figura 19 - Esquema mostrando as etapas da extração em fase sólida. A: analito; Pi: padrão interno; I: interferentes da matriz. Fonte: Adaptado de OLIVEIRA, et. al., 2005.

4.5.3. Métodos de confirmação

Laboratórios de toxicologia necessitam sempre se reinventar em relação aos métodos de confirmação, principalmente em relação aos canabinoides sintéticos, pelo fato de que novas drogas sintetizadas podem não ser detectadas pelos métodos analíticos tradicionais (WOHLFARTH, *et al.*, 2014). Havendo alguma suspeita de abuso desta droga, deve-se realizar um método de confirmação específico. Dentre os descritos na literatura para se detectar CS, encontram-se a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas e a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa.

4.5.3.1. Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS)

A cromatografia gasosa é uma técnica em que a fase móvel é um gás, denominado comumente gás de arraste. A principal função desta fase é carrear os analitos volatilizados que foram introduzidos na coluna cromatográfica mediante um sistema de injeção. Por serem gases inertes, as moléculas da fase móvel, não apresentam afinidade pelas moléculas do analito com a fase estacionária existente dentro da coluna cromatográfica. (LANÇAS, 2009).

A cromatografia pode ser combinada a diferentes sistemas de detecção, tratando-se de uma das técnicas analíticas mais utilizadas e de melhor desempenho. O acoplamento de um cromatógrafo com o espectrômetro de massas combina as vantagens da cromatografia (alta seletividade e eficiência de separação) com as vantagens da espectrometria de massas (obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade) (VÉKEY, 2004). (Figura 20). Na CG, podem ser utilizadas colunas capilares, neste caso, o sistema de

bombeamento do espectrômetro de massas é capaz de captar todo o eluente da coluna. (CHIARADIA, *et. al.*, 2008).

Existem dois métodos de ionização empregados em CG-EM: por impacto de elétrons (IE) e a ionização química (IQ). Na IE o analito de interesse, em fase gasosa, é bombardeado com elétrons de alta energia (geralmente 70 eV). As moléculas do analito absorvem esta energia desencadeando vários processos, dentre os quais o mais simples é aquele em que o analito é ionizado pela remoção de um único elétron (M^{+}). Este processo requer tipicamente 10 eV e o restante da energia gera fragmentação dos analitos (ARDREY, 2003; SMERAGLIA, *et. al.*, 2002; HAGER, *et. al.*, 2003; CHIARADIA, *et. al.*, 2008)

Já a IQ é a técnica que foi desenvolvida especialmente para aumentar a produção do íon molecular e reduzir as fragmentações associadas à ionização por elétrons. Nesta técnica, as moléculas do analito, em fase gasosa, são introduzidas na câmara de ionização do espectrômetro de massas, que contém um gás reagente. Esta mistura (moléculas do analito mais gás reagente) é bombardeada com elétrons, assim como na IE. Mas, como o gás reagente está em excesso em relação ao analito (geralmente em proporção maior que 1000:1), ele é ionizado quase que exclusivamente e passam a ocorrer reações entre os íons em fase gasosa do gás reagente e as moléculas neutras do analito, dando origem aos íons pseudo-moleculares do analito $[M+H]^+$. Por este processo ser relativamente de baixa energia, quase não é observada fragmentação (ARDREY, 2003; SMERAGLIA, *et. al.*, 2002; HAGER, *et. al.*, 2003; CHIARADIA, *et. al.*, 2008; ALDLGAN E TORRANCE, 2016).

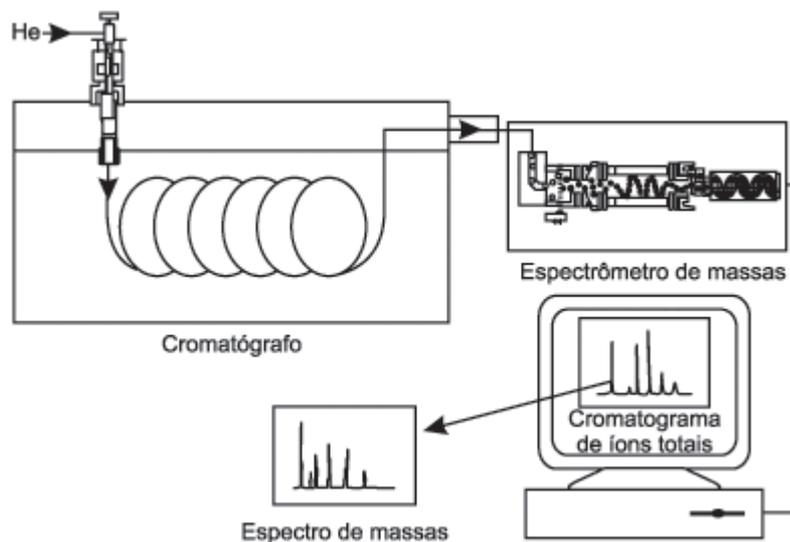


Figura 20 - Esquema de cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas. Fonte: Adaptado de VEKEY *et. al.*, 2004.

A temperatura da coluna é uma variável importante para se obter boa resolução. Nesse sentido, usa-se a programação de temperatura, na qual a temperatura da coluna é aumentada à medida que a separação se processa, de tal forma que os compostos mais fortemente ligados à FE possam sair no cromatograma em tempos aceitáveis, sem que a resolução dos sinais dos compostos mais voláteis seja comprometida (HARRIS, 2012).

Desta forma, espectros de massa típicos para CS específicos obtidos por GC/MS, estão representados na figura 21. A fragmentação da subclasse dos CS naftoilindoles têm sido bem estudadas para a identificação por GC-MS, logo, a identificação é facilitada pela comparação dos espectros com bancos de dados laboratoriais (ZAITSU *et. al.*, 2011).

A tentativa de identificação de CS pode ser um pouco dificultada, porque espectros de massa semelhantes, porém de substâncias diferentes podem ser obtidos por GC-MS. Isso ocorre devido à constante substituição de grupos funcionais, como anel aromático, por exemplo, levando à modificação do CS, gerando substâncias ainda não cadastradas em bancos de dados. Além disso, a identificação de ciclopropil ou análogos de éster, como UR-44 ou QUPIC, geralmente não são possíveis porque o ciclopropil e análogos são instáveis ao calor e são facilmente degradados na porta de injeção do instrumento GC (ERNST, *et. al.*, 2012; IBAÑEZ, *et. al.*, 2013; GRIGORYEV, *et. al.*, 2013; TSUJIKAWA, *et. al.*, 2014).

Um exemplo da utilização destes bancos de dados para CS específicos obtidos por GC/MS, foi descrito no site do Instituto-Geral de Perícias, do Rio Grande do Sul (IGP-RS) datado do dia 27 janeiro de 2021. Uma droga com efeito semelhante à maconha, comercializada sob a forma de um pequeno selo de papel, foi identificada pela primeira vez no Rio Grande do Sul pelo Departamento de Perícias Laboratoriais do IGP. A amostra apreendida foi diluída e depois analisada por CG-EM. Por exigência do padrão de qualidade seguido pelo IGP/RS, é necessário comparar a amostra com um exemplar de referência, sem impurezas – o chamado padrão analítico. O padrão acabou sendo fornecido pela Polícia Federal, que já havia feito esse trabalho em Brasília, por fim, a substância foi identificada como o CS 5F-MDMB-PICA. (IPG/RS, 2021).

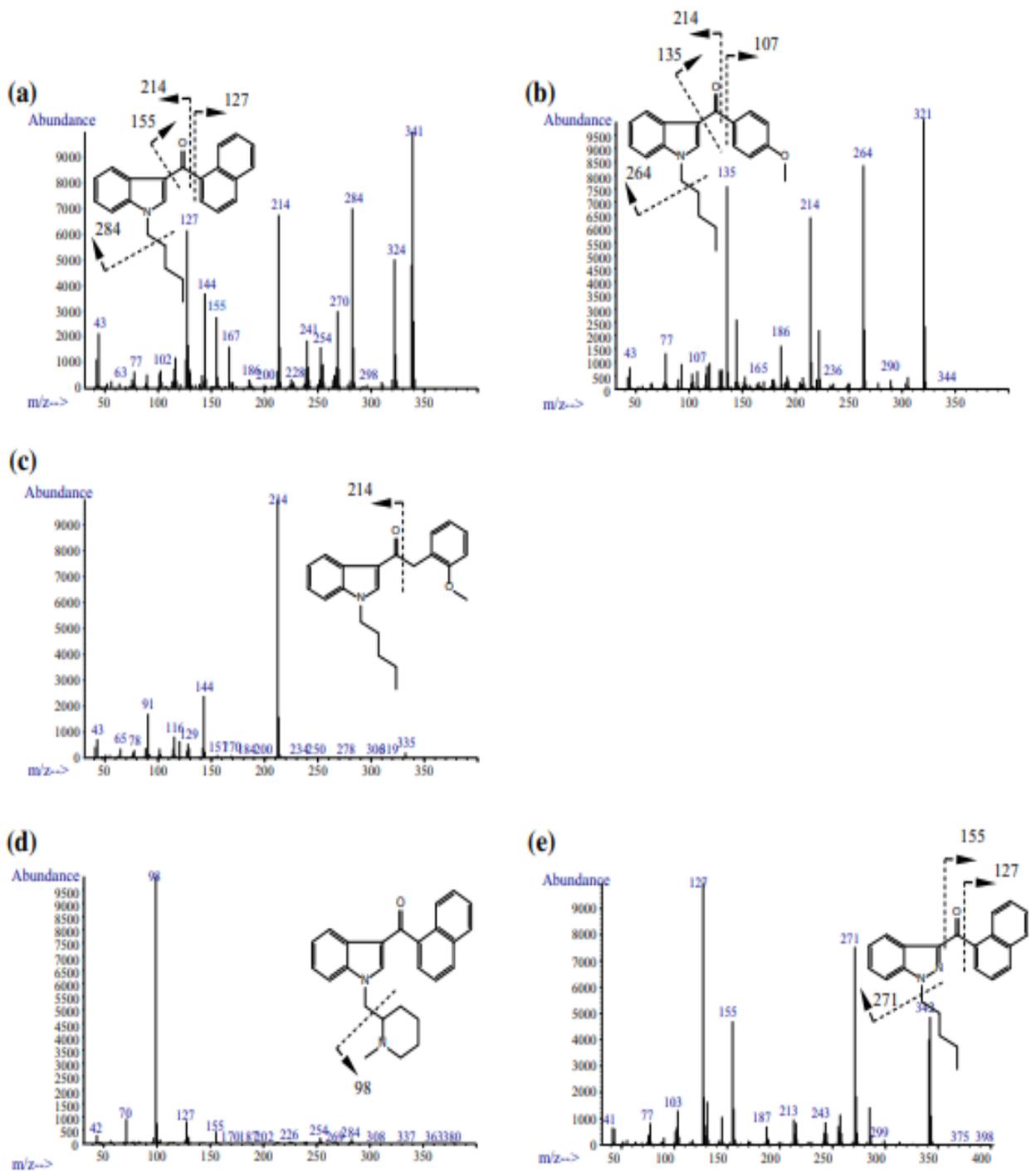


Figura 21 - Espectros de massa típicos de canabinóides sintéticos obtidos por GC-MS: a) JWH-018, b) RCS-4, c) JWH-250, d) AM-1220, e) THJ-018. Fonte: Adaptado de NAMERA *et. al.*, 2015.

4.5.4.2. Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS/MS)

O acoplamento da cromatografia líquida de alta eficiência com a espectrometria de massas (LC-MS) é uma ferramenta analítica de grande aplicabilidade, pois combina a capacidade de separação de diferentes compostos da cromatografia líquida (LC) com a capacidade de analisar massas da espectrometria de massas (MS) (GRIGORYEV *et. al.*, 2004).

A espectrometria de massas fundamenta-se na medida da massa de íons provenientes de analitos em fase gasosa e determinados como uma relação massa-carga (m/z) (PITT, 2009). De forma geral, espectrômetros de massas fornecem identificação do (s) composto (s) em estudos por meio da determinação da massa molecular, da composição elementar e da composição isotópica dos elementos, bem como informação estrutural por experimentos de fragmentação (ROSSI, *et. al.*, 2001; ARDREY, 2003).

É possível explorar as capacidades analíticas do LC e do MS, resultando em maior rapidez nas análises, na possibilidade de avaliar a pureza das bandas cromatográficas, na capacidade de analisar compostos com retenção cromatográfica idêntica ou similar e na obtenção de elevada sensibilidade, possibilitando a detecção de compostos em baixas concentrações (pico e fentogramas) (ARDREY, 2003; NIELSEN, 2007). Na figura 22, é representado esquematicamente este sistema.

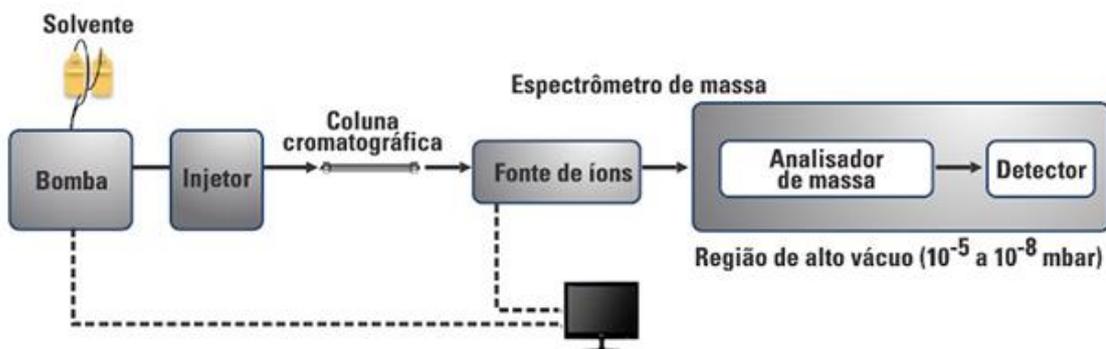


Figura 22 - Representação esquemática de um sistema LC-MS. Fonte: Adaptado de GRIGORYEV *et. al.*, 2004

As fontes de ionização mais utilizadas nos sistemas

LC-MS são a fonte de ionização por *eletrospray* (ESI), ionização química à pressão atmosférica (APCI) e fotoionização à pressão atmosférica (APPI). Estas fontes diferem quanto ao processo em que os íons são formados e, conseqüentemente, na sua aplicação, como aponta o quadro abaixo:

Interfaces API	Vantagens	Desvantagens
ESI	<ul style="list-style-type: none"> - Análise de compostos: <ul style="list-style-type: none"> ✓ média e alta polaridade; ✓ de baixa e elevada massa molecular; - Formação de íons mono e multicarregados. - Vazões nL/min até 1 mL/min 	<ul style="list-style-type: none"> - Não é aplicado a compostos apolares; - Processo de ionização influenciado pela presença de aditivos e solução tampão; - Ideal para cromatografia no modo reverso de eluição
APCI	<ul style="list-style-type: none"> - Análise de compostos: <ul style="list-style-type: none"> ✓ média a baixa polaridade; ✓ massa molecular < 1.000 Da. - Altas vazões (até 2 mL/min). - Maior tolerância à concentração de aditivos e solução tampão. - Permite o uso de solventes não polares. 	<ul style="list-style-type: none"> - Baixa eficiência de ionização em baixas vazões. - Não aplicável a compostos termicamente instáveis. - Não forma íons multicarregados.
APPI	<ul style="list-style-type: none"> - Análise de compostos: <ul style="list-style-type: none"> ✓ apolares e de média polaridade; ✓ massa molecular < 1.000 Da. - Alta sensibilidade para compostos com alta afinidade por prótons. - Menor susceptibilidade à supressão iônica. - Alta eficiência em baixas vazões (100 - 200µL/min). - Permite o uso de solventes não polares. 	<ul style="list-style-type: none"> - Baixa eficiência de ionização a altas vazões. - Não aplicável a compostos termicamente instáveis.

Quadro 3 - Quadro 3 - Características gerais das fontes de ionização à pressão atmosférica (ESI, APCI e APPI).
Fonte: Adaptado de GRIGORYEV *et. al.*, 2004.

Na grande maioria dos trabalhos publicados sobre CS, ESI é o método de ionização de escolha mais utilizado, porém APCI e APPI são complementares ao ESI e úteis para análises de compostos apolares e termicamente estáveis. Além disso, pode ser usada uma técnica de *polarity switch*, concomitantemente com ESI, a fim de se monitorar íons positivos e negativos através da mudança de polaridade constante durante a corrida, uma vez que CS, em sua maioria tem como propriedade físico-química serem apolares (MATOS, 2016; BARBOSA, 2018). Quanto aos analisadores de massas, os mais comumente empregados são: quadrupolo, armadilha de íons (*Ion Trap, Trap*), tempo de voo (*Time of Flight, TOF*), *Orbitrap*, e Ressonância Ciclotrônica de Íons com Transformada de Fourier (*Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance, FT-ICR*) (BOESL, 2017).

A abordagem com MS *tandem* amplifica o sinal dos compostos em menor quantidade, aumentando a especificidade e seletividade (FAVRETTO, *et. al.*, 2013). Recentemente, tem-se optado por utilizar o LC acoplado por MS *tandem* para se obter melhores resultados, além de que se consegue a identificação de metabolitos em amostras de urina e de

outros ingredientes desconhecidos pertencentes aos produtos comercializados nas embalagens das “*Design Drugs*” (NEMERA, et. al., 2015). (Figura 23).

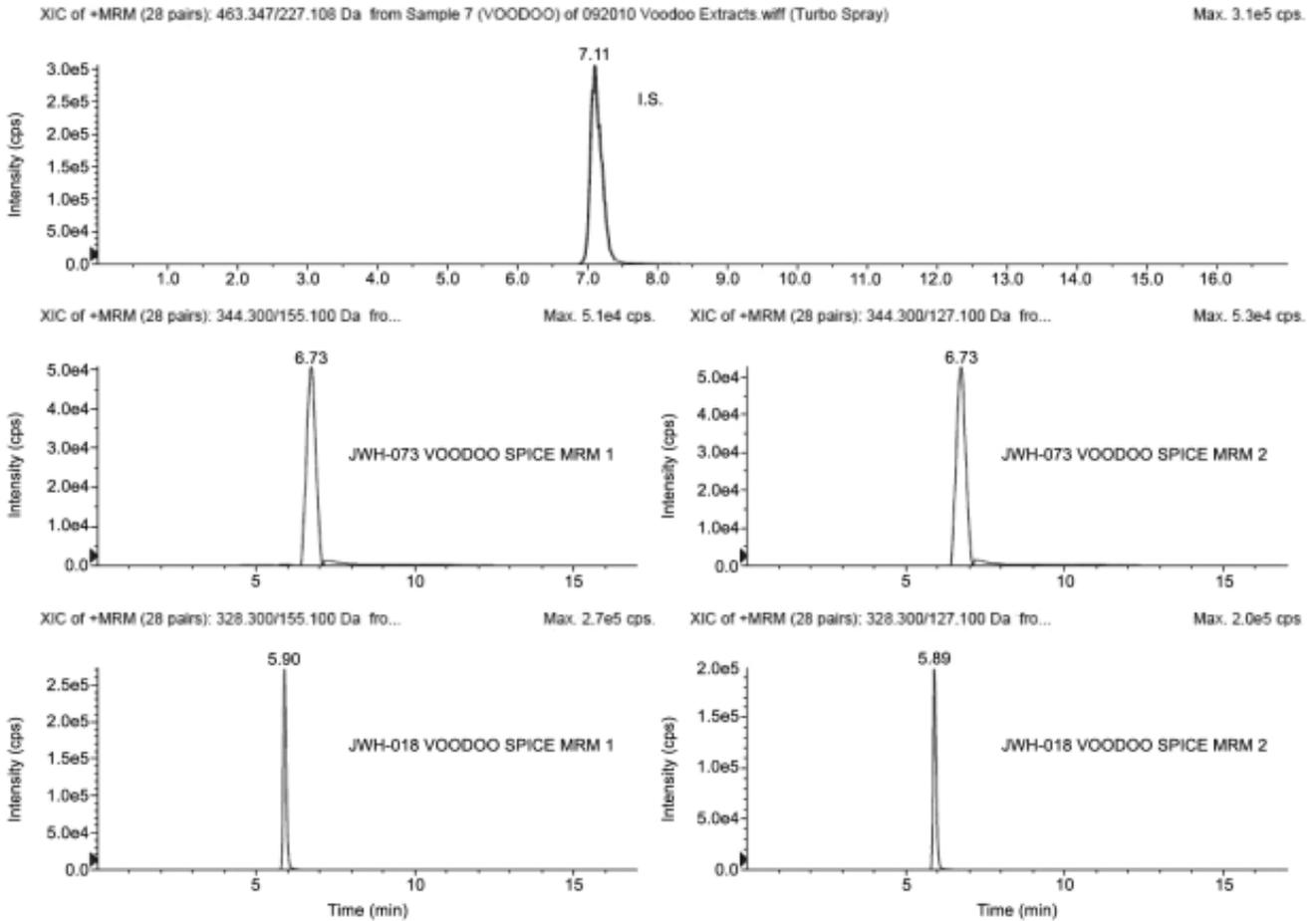


Figura 22 – Cromatografia por LC–MS–MS do canabinoide JWH-018 e JWH–073, contidos no produto comercial de nome “Voodoo Spice” Fonte: Adaptado de ELSOHLY, et. al., 2011.

Em 2017, foi realizado um estudo sobre CS por Pon e Fenyvesi, pelo Departamento de Medicina Legal e Patologia da Escola de Medicina clínica, Faculdade de Ciências da Saúde, em Johannesburgo, África do Sul. O objetivo, foi detectar e quantificar, *post mortem*, vários canabinoides sintéticos como: JWH-018, JWH-019, JWH-073, JWH-081, JWH-122 JWH-200, JWH-250, AM-2201, (\pm) -CP 47.497, (C8) -CP 47.497, HU-211) e metabólitos secundários: (JWH-018 N- (4-hidroxiptetil) e JWH-073 (N- (3-hidroxiptetil))) em sangue total e urina obtidas ao longo de um período de 5 meses, para avaliar a prevalência destes canabinoides sintéticos entre a população local pós-morte (PON e FENYVESI, 2017).

As amostras de urina foram extraídas utilizando uma extração em fase sólida (SPE), enquanto as amostras de sangue foram extraídas utilizando o método de extração líquido-

líquido (LLE) e o método de confirmação utilizado foi cromatografia líquida acoplada com espectrometria de massas de alta resolução (PON e FENYVESI, 2017).

Outro estudo, realizado pelo Office of the Chief Medical Examiner de Oklahoma e pelo Instituto de Ciências Forenses da Universidade Central, pesquisou a estabilidade dos CS em diferentes espécimes biológicas. Foram usados quatro compostos AB-Pinaca, AB-Fubinaca, XLR-11 e UR-144. Os pesquisadores optaram por usar cromatografia líquida com espectrometria de massa em *tandem* (LC-MS/MS) como técnica de análise. As amostras de CS, foram armazenados nas seguintes temperaturas: 22°C, 4°C e -20°C, e, após o experimento, concluiu-se que o melhor método de armazenamento de amostras biológicas enviadas para análise, deve ser congelada em -20 °C pois, todas as quatro amostras evitaram degradação nesta apresentando uma melhor estabilidade (FORT, et al., 2017).

Um estudo realizado no Japão, em 2016, utilizou GC-MS com um método de fotoionização (PI) para analisar sessenta e dois CS diferentes. Visavam comparar os resultados de cromatografia gasosa-fotoionização-espectrometria de massa com aqueles no banco de dados contendo espectros de cromatografia gasosa-ionização de elétrons-espectrometria de massa. O objetivo deste estudo foi apontar as diferenças em informações fornecidas por ambas as técnicas e como elas podem ser usadas para identificar o CS específico presente. Com base A técnica de GC-MS usando um método de ionização de elétrons (EI) é mais usada quando analisar canabinóides sintéticos (AKUTSU *et al.*, 2017).

As sessenta e duas amostras de CS precisaram ser dissolvidas na preparação para análise. Cinquenta e sete foram dissolvidos em metanol a uma concentração de 100 µg / ml. Os cinco restantes, os compostos de carboxilato, foram dissolvidos em acetonitrila na mesma concentração de 100 µg / mL. Vinte dos sessenta e dois canabinóides sintéticos escolhidos também foram analisados usando o GC-EI-MS para fins comparativos (AKUTSU *et al.*, 2017).

Um estudo para desenvolver um método para quantificação de canabinóides sintéticos em diferentes tipos de materiais vegetais foi organizado e realizado pelo Forensic Chemistry Center do US Food and Drug Administration in Ohio. Foi desenvolvido um método amplo o suficiente para quantificar um grande número de CS disponíveis. O método foi validado especificamente para várias classes, incluindo ciclohexilfenóis, naftoilindóis, benzoilindóis e fenilacetilindóis. Trinta e quatro CS foram selecionados para análise usando folhas de marshmallow, folhas de Damiana e folhas de verbasco, essas folhas são as mais utilizadas para serem pulverizadas por CS (CIOLINO, 2015).

A técnica utilizada foi a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de UV (HPLC-UV). Esta técnica segue os mesmos princípios da cromatografia líquida, inicia-se com a separação cromatográfica de uma amostra líquida, isolando todos os componentes da mistura, um detector de luz UV-Vis é usado para identificar os analitos presentes. Cada analito irá absorver luz em um comprimento de onda diferente, que é registrado e comparado com padrões conhecidos em um banco de dados (ZHANG & ROCK, 2016). Este método tem alta sensibilidade e não requer o uso de padrão interno (CIOLINO, 2015).

Esta técnica tem sido aplicada à investigação de CS entre os anos 2009 e 2013 (CIOLINO, 2015), portanto é uma das técnicas mais recentes empregadas na detecção deste tipo de substância. O sucesso comprovado do uso de HPLC-UV para quantificar a concentração de CS coletados como evidência pode ser útil para auxiliar os profissionais forenses com a análise e ainda auxiliar profissionais da saúde ao se deparar com quadros de intoxicação aguda com CS (BOVE, 2021)

5. CONCLUSÕES

Os CS são compostos químicos que mimetizam a ação do THC, tendo seus efeitos fisiológicos e psicoativos semelhantes a este, porém com maior intensidade e toxicidade devido ao seu mecanismo de ação como agonista total dos receptores canabinóides CB₁ e CB₂.

Apesar de mimetizarem o THC, os CS possuem uma grande diversidade química o que torna este grupo de substâncias particularmente difícil de detectar, além disso, existem poucos dados relativos ao metabolismo dos canabinóides sintéticos, sendo estes os grandes desafios destas drogas.

As matrizes biológicas mais comumente utilizadas na análise e detecção de canabinóides sintéticos são sangue total, soro, fluido oral, urina e cabelo, sendo o sangue, utilizado para quantificação do uso recente do CS e o cabelo, quando se pretende avaliar o uso crônico da droga.

A análises das matrizes biológicas associadas à alta tecnologia dos métodos cromatográficos altamente sensíveis, como a CG/MS e a LC/MS, permitem auxiliar em uma avaliação qualitativa e quantitativa dessas drogas em diferentes tipos de matrizes.

6. REFERÊNCIAS

AIRES, C. A. M. *et al.* **Biossegurança em transporte de material biológico no âmbito nacional: um guia breve.** Rev Pan-Amaz Saúde; 6(2):73-81, 2015.

ALDLGAN, A. A.; TORRANCE, H. J. **Bioanalytical methods for the determination of synthetic cannabinoids and metabolites in biological specimens.** Trends in Analytical Chemistry, 2016.

ALVES, A.; SPANIOL, B.; LINDEN, R. **Canabinoides sintéticos: drogas de abuso.** Rev. Psiq. Clín. 39: 142-148, 2012.

AMATO, J.; PAGANO, B.; LACCARINO, N.; NOVELINO, E. **NMR assignment of N 1-(adamtyl)1-pentyl-1-1H-indazole-3-carboximide Seized as Herbal Incense for the first time in Italy.** J. Forensic Sci Criminol 2, 2016.

ARDREY, R. E.; **Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction.** West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd.; p. 277, 2003.

AUWARTER, V.; DRESEN, S.; FERREIRÓS, N.; PÜTZ, M.; WESTPHAL, F.; ZIMMERMANN, R. **Monitoring of herbal mixtures potentially containing synthetic cannabinoids as psychoactive compounds.** Journal of Mass Spectrometry, 45(10), 1186–1194, 2010.

BARBOSA, I. L. **Desenvolvimento de métodos de análise de drogas de abuso em dried urine spots (DUS) por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS).** Instituto De Química. Universidade Estadual De Campinas. Campinas (SP) – 2018.

BOESL, U. **Time-of-flight mass spectrometry: Introduction to the basics.** Mass spectrometry reviews, 36(1):86-109, 2017.

BOISSELIER, R. L.; ALEXANDRE, J.; BOULOUARD, V. L.; DEBRUYNE, D. **Focus on Cannabinoids and Synthetic Cannabinoids**. Vol.101, 2, 2017.

BORDIN, D. C. M.; MONEDEIRO, F. F. S. S.; CAMPOS, E. G.; ALVES, M. N. R.; BUENO, L. H. P.; MARTINIS, B. S. **Técnicas de preparo de amostras biológicas com interesse forense**. Instituto Internacional de Cromatografia, Scientia Chromatographica; 7(2):125-143, 2015.

BORG, D.; TVERDOVSKY, A.; STRIPP, R. **A Fast and Comprehensive Analysis of 32 Synthetic Cannabinoids Using Agilent Triple Quadrupole LC–MS-MS**. Journal of Analytical Toxicology Advance, 1–11, 2016.

BRABANTER, B. D.; ESPOSITO, S.; TUDELA, E.; LOOTENS, L.; MEULEMAN, P.; ROELS, G. L.; DEVENTER, K.; EENOO, P. V. **In vivo and in vitro metabolism of the synthetic cannabinoid JWH-200**. Rapid Commun. Mass Spectrom. 27, 2115–2126, 2013.

BULCÃO, R.; *et al.* **Designer Drugs: Aspectos Analíticos E Biológicos**. Quim. Nova, Vol. 35, No. 1, 149-158, 2012.

BURROWS, B. T.; WATTERSON, L. R.; EGNATIOS, J.; OLIVE, M. F. **Synthetic Cannabinoids: a Summary of Selected Phenomena With Respect to Behavioral Pharmacology and Abuse Liability**. Handbook of Cannabis and Related Pathologies, 71, 2017.

BYNUM, H.; BYNUM, W. F. **Remarkable plants that shape our world**. 2014. University of Chicago Press, 2014.

CASADIEGO, A. F. M.; BELLO, S. M. L.; **Cannabis sintético: aspectos toxicológicos, usos clínicos y droga de diseño**. Rev. Fac. Med. Vol. 63 No. 3: 501-10, 2015.

CASTANETO, M. S.; GORELICK, D. A.; DESROSIERS, N. A.; HARTMAN, R. L.; PIRARD, S.; HUESTIS, M. A. **Synthetic Cannabinoids: Epidemiology, Pharmacodynamics, and Clinical Implications**. Drug Alcohol Depend. 0: 12–41, 2014.

CASTANETO, M. S.; WOHLFARTH, A. GORELICK, D. A.; DESROSIERS, N. A.; HARTMAN, R. L.; PIRARD, S.; HUESTIS, M. A. **Synthetic Cannabinoids Pharmacokinetics And Detection Methods In Biological Matrices.** Drug Metab Rev, Early Online: 1–51, 2015.

CHASE, P. B.; HAWKINS, J.; MOSIER, J.; JIMENEZ, E.; BOESEN, K.; LOGAN, B. K.; WALTER, F. G. **Differential physiological and behavioral cues observed in individuals smoking botanical marijuana versus synthetic cannabinoid Drugs.** Clinical Toxicology, 54:1, 14-19, 2016.

CHO, B.; CHO, H. S.; KIM, J.; SIM, J.; SCOL, I.; BAECK, S. K.; IN. S.; SHIN, D. H.; KIM, E. **Simultaneous determination of synthetic cannabinoids and their metabolites in human hair using LC-MS/MS and application to human hair.** Forensic Science International, 2019.

CLAUWAERT, K. M.; BOCXLAER, J. F. V.; LEENHEER, A. P. **Stability study of the designer drug “ MDA, MDMA, and MDEA” in water, serum, whole blood, and urine under various storage temperature.** Forensic Science International 124, 32-42, 2001.

COSTA, J. L. G. P.; MAIA, L. O.; MATTOS, P. O.; VILLARES, J. C.; ESTEVES, M. A. F. **Neurobiologia da Cannabis: do sistema endocanabinoide aos transtornos por uso de Cannabis.** Jornal Brasileiro de Psiquiatria, 2011.

CRIME, UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND. **Synthetic cannabinoids in herbal products.** 2011. United Nations Office On Drugs And Crime. Disponível em: https://www.unodc.org/documents/scientific/Synthetic_Cannabinoids.pdf.

CROUCH, D. J. **Oral fluid collection: The neglected variable in oral fluid testing.** Forensic Science International 150, 165–173, 2005.

DIAO, X.; HUESTIS, M. A. **Approaches, Challenges and Advances in Metabolism of New Synthetic Cannabinoids and Identification of Optimal Urinary Marker Metabolites.** 2016.

ELSOHLY, M. A.; GUL, W.; ELSOHLY, K. M; MURPHY, T. P.; MADGULA, V. L. M.; KHAN, S. I. **Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Analysis of Urine Specimens for K2 (JWH-018) Metabolites.** Journal of Analytical Toxicology, Vol. 35, 2011.

EMCDDA. **Annual report 2012: the state of the drugs problem in Europe.** European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. 2012. Disponível em: https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/973/TDAC12001ENC_.pdf.

EMCDDA. **Perspectives On Drugs Synthetic Cannabinoids In Europe.** European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. 2017. Disponível em: https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/2753/POD_Synthetic%20cannabinoids_0.pdf

ERNST, L.; KRUGER, K.; LINDIGKEIT, R.; SCHIEBEL, H.; M. BEUERLE, T. **Synthetic cannabinoids in “spice-like” herbal blends: first appearance of JWH-307 and recurrence of JWH-018 on the German market.** Forensic Sci. Int. 222:216–222, 2012.

FATTORE, L. **Synthetic cannabinoids – further evidence supporting the relationship between cannabinoids and psychosis.** Biological Psychiatry, 2016.

FATTORE, L.; FRATTA, W. **Beyond THC: The New Generation of Cannabinoid Designer Drugs.** Frontiers in Behavioral Neuroscience 5, 2011.

FAVRETTO, D. **New challenges and innovation in forensic toxicology: Focus on the “New Psychoactive Substances ”.** J. Chromatogr. A , 2013.

FERNANDES, L. M. L. **Determinação de Tetraidrocanabinol e principais metabolitos em amostras de plasma com recurso à microextração em seringa empacotada e análise por cromatografia gasosa acoplada a um detector de espectrometria de massa em tandem.** Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal, 2013.

FREUND, S. A.; BANNING, A. S. **Synthetic cannabinoids: A review of the clinical implications of a new drug of choice.** JAAPA Journal of the American Academy of Physician Assistants. 2017.

GOLAN, D. E. e col. **Princípios de Farmacologia. A Base Fisiopatológica da Farmacologia.** Editora Guanabara Koogan, 3ª edição, 2014.

GOMES, M. S. **Contributo da Química Forense na Detecção de Drogas de Abuso.** Departamento De Química E Bioquímica. Faculdade De Ciências. Universidade De Lisboa, Portugal, 2013.

GORDO, J. M. O. **O cabelo como amostra biológica em toxicologia forense: colheita, análise e áreas de aplicação.** Universidade Fernando Pessoa. Porto, Portugal, 2013.

GRECCO, C. F.; MIRANDA, L. F. C.; CRUZ, J. C.; QUEIROZ, M. E. C. **Extração líquido-líquido assistida pelo efeito salting out para análise de amostras biológicas.** Instituto Internacional de Cromatografia, Scientia Chromatographica; 10(2):99-110, 2018.

GRIGORYEV, A.; KAVANAGH, P.; MELNIK, A.; SAVCHUK, S.; SIMONOV, A. **Gas and liquid chromatography–mass spectrometry detection of the urinary metabolites of UR-144 and its major pyrolysis product.** J Anal Toxicol. 37:265–276, 2013.

GROTENHERMEN, F. **Pharmacology of cannabinoids.** Neuroendocrinology Letters 14 – 23, 2004.

GURDAL, F.; AKER, R. G.; KUCUKIBRAHIMOGLU, E. E.; INCE, C. H. **Review of detection frequency and type of synthetic cannabinoids in herbal compounds analyzed by Istanbul Narcotic Department of the Council of forensic medicine.** Journal of Forensic and Legal Medicine, 2013.

HARRIS, C. R.; BROWN, A. **Synthetic Cannabinoid Intoxication: A Case Series and Review.** The Journal of Emergency Medicine, 44(2), 360–366, 2012.

HENRIQUES, C. M. C. **Drogas sintéticas e seus precursores: revisão sistemática de canabinóides sintéticos, catinonas sintéticas, efedrina e dimetilamina.** Ciências da Saúde, Universidade Da Beira Interior, Covilhã, 2018.

HOWLETT, A. C.; BARTH, F.; BONNER, T. I.; CABRAL, G.; CASELLAS, W. A. P.; FELDER, C. C.; HERKEHANHAM, M.; MACKIE, K.; MARTIN, B. R.; MECHOULAM, R. PERTWEE, R. G. **International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Canabinoid Receptors.** Pharmacol. Rev. 54:161 – 202, 2002.

https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/2753/POD_Synthetic%20cannabinoids_0.pdf.

HU, Q.; NOLL, R. J. LI, H.; MAKAROV, A.; HARDMAN, M.; GRAHAM, C. R. **The Orbitrap: a new mass spectrometer.** Journal of mass spectrometry: JMS. 40(4):430-43, 2005.

HUTTER, M.; BROECKER, S.; KNEISEL, S.; AUWÄRTER, V. **Identification of the major urinary metabolites in man of seven synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type present as adulterants in ‘herbal mixtures’ using LC-MS/MS techniques.** J. Mass. Spectrom, 47, 54–65, 2012.

IBAÑEZ, M.; BIJLSMA, L.; ALN, V. N.; SANCHO, J. V.; HARO, G.; COVACI, A.; HERNANDEZ, F.; (2013) **Quadrupole-time-of-flight mass spectrometry screening for synthetic cannabinoids in herbal blends.** J Mass Spectrom. 48:685–694, 2013.

JAGER, A. D.; WARNER, J. V.; HENMAN, M.; FERGUSON, W.; HALL, A. **LC-MS/MS method for the quantitation of metabolites of eight commonly-used synthetic cannabinoids in human urine – An Australian perspective.** J. Chromatogr. B 897, 22–31, 2012.

JARDIM, I. C. S. F. **Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas.** Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas. Scientia Chromatographica Vol.2, N°1, 13-25, Campinas (SP), 2010.

KATAOKA, H.; LORD, H. L. **Sampling and sample preparation for clinical and pharmaceutical analysis.** In: pawliszyn, j. (ed.). **Sampling and sample preparation for field and laboratory.** Amsterdam: Elsevier, P. 779-836, 2002.

KERRIGAN, S. **Sampling, storage and stability.** Sample chapter from Clarke's Analytical Forensic Toxicology, second edition. 2011.

LABAY, L. M.; CARUSO, J. L.; GILSON, T. P.; PHIPPS, R. J.; KNIGHT, L. D.; LEMOS, N.P.; MCINTYRE, I. M.; STOPPACHER, R.; TORMOS, L. M.; WEINS, A. L.; WILLIAMS, E.; LOGAN, B. K.; **Synthetic Cannabinoid Drug Use as a Cause or Contributory Cause of Death.** Forensic Science International, 2015.

LANÇAS, F. M. **A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”?** Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo – São Carlos (SP), 2009.

LARANJEIRA, R. R.; MADRUGA, C. S.; MASSARO, L. **Uma nova ameaça à saúde pública.** Revista Entreteses, nº 6, 2016.

LUTZ, B. **Molecular Biology of Cannabinoids receptors.** Group Molecular Genetics of Behavior, Max-Planck-Institute of Psychiatry, Kraepelinstrasse 2-10, Munich, Germany: 123 – 142, 2002.

MATOS, A. F. G.; GUEDES, E. P.; SOUZA, L. L.; VALERIO, C. M. **O sistema endocanabinoide: novo paradigma da síndrome metabólica.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia., 390 – 399, 2006.

MATOS, R. M. M. C. **Deteção e identificação de compostos químicos resultantes da queima de produtos contendo canabinóides sintéticos.** Faculdade de Farmácia. Universidade do Porto. Portugal, 2016.

MATROUCK, A. A.; ALQALLAF, M.; ALSHEMMERI, A.; BOJBARAH, H. **Identification of synthetic cannabinoids that were seized consumed, or associated with deaths in Kuwait in 2018 using GC-MS and LC-MS-MS analysis.** Forensic Science International, 2019.

MATROUK, A.; ALQALLAF, M.; ALSHEMMERI, A.; BOJBARAH, H. **Identification of synthetic cannabinoids that were seized, consumed, or associated with deaths in Kuwait in 2018 using GC-MS and LC-MS-MS analysis.** Forensic Science International 303, 109960, 2019.

MAZZARINO, M. X.; BOTRE, F. **A liquid chromatographydashmass spectrometry method based on ` class characteristic fragmentation pathways to detect the class of indole derivative synthetic cannabinoids in biological samples.** Analytica Chimica Acta, 2014.

MECHOULAM, R.; SPATZ, M.; SHOHAMI, E. **Molecular Biology of Cannabinoids receptors.** Sci. STKE 129, 2002.

MEDRANO, K. **Synthetic Marijuana is a legal drug with a growing trails of overdoses and no studies - until now.** Nesweek, 2017. Disponível em: <https://www.newsweek.com/synthetic-marijuana-legal-drug-growing-trail-overdoses-and-no-studies-until-719049>.

MEYER, M. R. **New psychoactive substances: an overview on recent publications on their toxicodynamics and toxicokinetics.** Arch Toxicol 90:2421–2444, 2016.

NAMERA, A.; KAWAMURA, M.; NAKAMOTO, A.; SAITO, T.; NAGAO, M. **Comprehensive review of the detection methods for synthetic cannabinoids and cathinones.** Forensic Toxicol 33:175–194, 2015.

NIAZ, K.; KHAN, F.; MAQBOOL, F.; MOMTAZ, S.; HASSAN, F. I.; HAGUIGUI, N. N.; RAHIMIFARD, M.; ABDOLLAHI, M. **Endocannabinoids system and the toxicity of cannabinoids with a Biothechnological Aproach.** EXCLI Journal, 688-711, 2017.

NIELSEN, W. M. A. **Liquid chromatography-mass spectrometry**. Boca Raton: Taylor & Francis Group; p. 608, 2007.

NOVÁKOVÁ, L.; VLČKOVÁ, H. **A review of current trends and advances in modern bio-analytical methods: Chromatography and sample preparation**. Analytica Chimica Acta, 656(1-2), 8–35, 2009.

PAPASEIT, E.; MAÑÁ, C. P.; ACEVEDO, A. P. P.; HLADUN, O. MORENO, M. C. T.; MUGA, R.; TORRENS, M. FARRÉ, M. **Cannabinoids: from pot to lab**. International Journal of Medical Sciences, 15(12): 1286-1295. 2018.

PEREIRA, D. G. **Importância Do Metabolismo No Planejamento De Fármacos**. Quim. Nova, Vol. 30, No. 1, 171-177, 2007.

PERÍCIAS, INTITUTO GERAL DE. **Droga sintética com efeitos semelhantes à maconha é identificada pelo IGP**. Secretaria de Segurança Pública, Rio Grande do Sul – RS, 2021. Disponível em: <https://igp.rs.gov.br/droga-sintetica-semelhante-a-maconha-e-identificada-pelo-igp>

PERTWEE, R. G. **The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of the plant cannabinoids: Δ^9 - castetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ^9 - tetrahydrocannabivarin**. British Journal of Pharmacology 153: 199 – 215, 2008.

PINTORI, N.; LOI, B. E.; MEREU, M. **Synthetic cannabinoids: the hidden size of Spice Drugs**. Behavioural Pharmacology, nº 2, 409-419, 2017.

PITT, J. J. **Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry**. Clin. Biochem. Rev.; 30:19-34. 2009.

POLSON, C.; SARKAR, P.; INCLEDON, B.; RAGUVARAN, V.; GRANT, R. **Optimization of protein precipitation based upon effectiveness of protein removal and ionization effect in liquid chromatography– tandem mass spectrometry**. Journal of Chromatography B, 785, 263–275, 2003.

PRAGST, F.; BALIKOVA, M. A. **State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse.** Clinica Chimica Acta, 370(1-2), 17–49, 2006.

RANG, H. P. RITTER, J. M. FLOWER, R. J. HENDERSON, G. **Farmacologia.** 8ª. Edição: Thomson Digital. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

RIBEIRO, J. A. C. **A Cannabis e suas aplicações terapêuticas.** Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2014.

ROSADO, T.; GONÇALVES, J.; LUIS, A. MALACA, S.; SOARES, S.; VIEIRA, D. N.; BARROSO, M.; GALLARDO, E. **Synthetic cannabinoids in biological specimens: a review of current analytical methods and sample preparation techniques.** Bioanalysis 10(19), 1609–1623, 2018.

ROSSI, D. T.; SINZ, M. W.; **Mass spectrometry in drug discovery.** New York: Marcel Dekker Inc.; p. 432, 2001.

SAITO, V. M.; CARSTEN, T. W.; MOREIRA, F. A. **Exploração farmacológica do sistema endocanabinoide: novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão?** Revista Brasileira de Psiquiatria 32, maio 2010.

SANTOS, A. M. N. **Análise toxicológica de canabinóides sintéticos em contexto forense.** Faculdade Ciências da Saúde, Faculdade Ciências da Saúde. Porto, Portugal, 2018.

SEELY, K. A.; LAPOINT, J.; MORAN, J. H.; FATTORE, L. **Spice drugs are more than harmless herbal blends: a review of the pharmacology and toxicology of synthetic cannabinoids.** Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 39(2): 234–243, 2012.

SEMEAR. **Relatório Mundial Sobre Drogas 2020. Breves Considerações Da Coordenação Do Comitê Do MPPR De Enfrentamento Às Drogas.** SEMEAR- Enfrentamento ao álcool, crack e outras drogas. Ministério Público do Estado do Paraná, Curitiba, Paraná-PR, 2020. Disponível em: https://site.mppr.mp.br/arquivos/File/Relatorio_Mundial_Drogas.pdf.

SEMPIO, C.; SCHEIDWEILER, K. B.; BARNES, A. J.; HUESTIS, M. A. **Optimization of recombinant β -glucuronidase hydrolysis and quantification of eight urinary cannabinoids and metabolites by liquid chromatography tandem mass spectrometry.** Intramural Research Program (IRP) of the National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health. 2017.

SILVA, E. F. Q. **Revisão de métodos para determinação de canabinoides em matrizes biológicas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de espectrometria de massas.** Faculdade De Farmácia, Universidade Federal Do Rio De Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

SIMÕES, S. S.; SILVA, I.; AJENJO, A. C.; DIAS, M. J. **Validation and application of an UPLC–MS/MS method for the quantification of synthetic cannabinoids in urine samples and analysis of seized materials from the Portuguese Market.** Forensic Science International 243; 117– 125, 2014.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B.; **Química Orgânica.** 10a ed., vol.1 e 2, LTC Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., RJ, 2012.

SOUZA, Y. P. **Sínteses e aplicações recentes do THC e seus derivados em Química Medicinal.** Universidade Federal de São João Del Rei, São João del Rei, 32, 2017.

STRECK, E. L.; COSTA, T. D. **Isoformas do citocromo P450 e outros fatores que alteram a biotransformação de fármacos.** Infarma, v. 11, nº 11/12, 2015.

TAI, S.; FANTEGROSSI, W. E. **Pharmacological and Toxicological Effects of Synthetic Cannabinoids and Their Metabolites.** Springer International Publishing AG 2016.

TAI, S.; FANTEGROSSI, W. E. **Synthetic Cannabinoids: Pharmacology, Behavioral Effects, and Abuse Potential.** Curr Addict Rep. June 1; 1(2): 129–136, 2014.

TANG, Y. Q.; & WENG, N. **Salting-out assisted liquid–liquid extraction for bioanalysis.** Bioanalysis, 5(12), 1583–1598, 2013.

TSUJIKAWA, K.; YAMAMURO, T.; KUWAYAMA, K.; KANAMORI, T.; IWATA, Y. T.; INOUE, H. **Thermal degradation of a new synthetic cannabinoid QUPIC during analysis by gas chromatography– mass spectrometry.** *Forensic Toxicol.* 32:201–207, 2014.

VARDAKOU, I.; PISTOS, C.; SPILIOPOULOU, C. **Spice drugs as a new trend: Mode of action, identification and legislation.** *Toxicology Letters*, 197(3), 157–162, 2010.

VEKEY, K.; VAS, G. **Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis.** *J. Mass Spectrom.*, Chichester, v.39, p.233-254, 2004.

WILEY, J. L.; OWENS, R. A.; LITCHMAN, A. H. **Discriminative stimulus properties phytocannabinoids, endocannabinoids and synthetic cannabinoids.** Springer International Publishing Switzerland, 2016.

WINTERMEYER, A.; MÖLLER, I.; THEVIS, M.; JÜBNER, M.; BEIKE, J.; ROTHSCHILD, M. A. BENDER, K. **In vitro phase I metabolism of the synthetic cannabimimetic JWH-018.** *Anal Bioanal Chem.* 398:2141–2153, 2010.

WOHLFARTH, A.; SCHEIDWEILER, K. B. CHEN, X.; LIU, H.; HUESTIS, M. A. **Qualitative Confirmation of 9 Synthetic Cannabinoids and 20 Metabolites in Human Urine Using LC–MS/MS and Library Search.** 2014.

ZAITSU, K.; KATAGI, M.; NAKANISHI, K.; SHIMA, N.; KAMATA, H.; KAMATA, T.; NISHIOKA, H.; MIKI, A.; TATSUNO, M.; IWAMURA, T.; SATO, T.; TSUCHIHASHI, H.; SUZUKI, K. **Comprehensive analytical methods of the synthetic cannabinoids appearing in the illicit drug market (in Japanese with English abstract).** *Jpn. J Forensic Sci Tech* 16:73–90, 2011.

ZNALEZIONA, J.; GINTEROVÁ, P.; PETR, J.; ONDRA, P.; VÁLKA, I.; SEVECÍK, J.; CHRASTINA, J.; MAIER, M. **Determination and identification of synthetic cannabinoids and their metabolites in different matrices by modern analytical techniques - a review.** Elsevier, 2015.

ZUARDI, A. W. **Canabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action.** Revista Brasileira de Psiquiatria 30, 271 – 280, 2008.