

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE THC, CBD E CBN EM AMOSTRAS DE PLASMA POR HS-SPME E GC-MS

Ingrid Okamoto Telli

Prof. Dr. Mauricio Yonamine

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Okamoto.ingrid@usp.br

Objetivos

A *Cannabis sativa* é uma das mais antigas plantas medicinais cultivadas, com registros de uso desde 4000 a.C. na China. No século XIX, foi incorporada à medicina ocidental, mas seu uso declinou no século XX devido a restrições legais [1]. No Brasil, apenas o uso medicinal é regulamentado (RDC nº 327/2019 da ANVISA), que permitiu a prescrição de produtos à base de cannabis [2]. Na detecção de uso de cannabis, utilizam-se diversos materiais biológicos [3], sendo o plasma preferido no monitoramento terapêutico devido à alta ligação do Δ^9 -tetraidrocannabinol (Δ^9 -THC) a proteínas plasmáticas [4]. Com o aumento da aplicação medicinal de canabinoides, torna-se importante desenvolver metodologias analíticas, e validá-las, que possibilitem monitoramento desses compostos. Este projeto propõe o desenvolvimento e validação de método para determinação e quantificação de Δ^9 THC, canabidiol (CBD) e canabinol (CBN) em plasma, utilizando microextração em fase sólida (SPME) por *headspace* (HS) e cromatografia em fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS), de forma a priorizar abordagens sustentáveis e de baixo impacto ambiental.

Métodos e Procedimentos

Para realização das análises, utilizou-se um equipamento de CG 6850 acoplado a MS quadrupolo modelo da *Agilent Technologies*

(Santa Clara, CA, EUA), disponível no Laboratório de Análises Toxicológicas – USP. Preparo da amostra: em um *vial* de HS de 10mL é adicionado o *pool* dos padrões (Δ^9 THC, CBD e CBN) e padrão interno (PI) (Δ^9 THC-d3) a 100ng/mL. Após a secagem, é adicionado 50mg de carbonato de sódio (Na_2CO_3), 900 μL de tampão fosfato 0,1M em pH 10 e 100 μL de plasma. A fibra de polidimetilsiloxano (PDMS) é exposta por HS durante 30 minutos em 90°C, seguida da injeção manual no GC-MS.

Resultados

Para maior sensibilidade do método de extração, é necessário a otimização das condições de matriz, como pH, temperatura, concentração e sal [6]. Assim, a preparação da amostra foi otimizada com o auxílio da ferramenta estatística DOE (*Design of Experiment*), no *Minitab® Statistical Software*. Foram comparadas as seguintes condições: pH (6 e 10); temperatura (60 e 90°C); tempo de incubação (20 e 40 min); volume de plasma (50 e 100 μL) e suas interações.

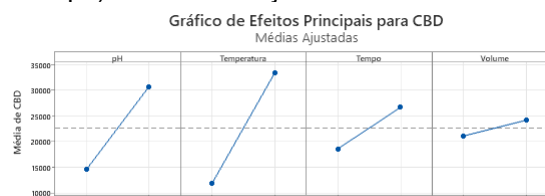


Figura 1: Efeito de pH, temperatura, tempo e volume sobre CBD

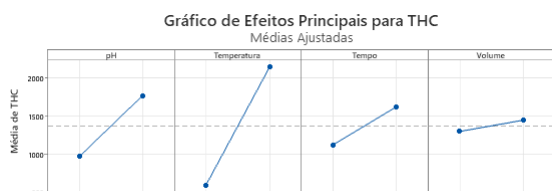


Figura 2: Efeito de pH, temperatura, tempo e volume sobre THC

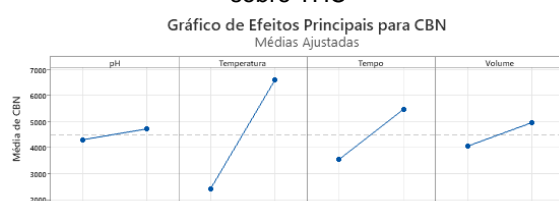


Figura 3: Efeito de pH, temperatura, tempo e volume sobre CBN

As condições de pH e temperatura tiveram melhora significativa em 10 e 90°C, respectivamente, enquanto a alteração do tempo e volume não foram significativos.

Determinados os parâmetros, iniciou-se a validação da metodologia. Testes de seletividade revelaram que não havia interferência nos analitos ou PI, provenientes da matriz ou de medicamentos. A concentração do limite de detecção (10ng/mL) e de quantificação (20ng/mL), estabelecidos com base em projeto prévio do laboratório [7]. A linearidade foi feita em quintuplicata em seis concentrações (20, 50, 100, 150, 200, 250ng/mL)

Analitos	Equação	r
Δ9THC	$y = 0,0197x + 0,7064$	0,9973
CBD	$y = 0,2044x - 1,8268$	0,9920
CBN	$y = 0,0502x - 0,7659$	0,9913

Conclusões

O projeto está em fase final de execução, faltando análises de *carryover*, precisão e exatidão, entretanto os resultados parecem ser promissores, devido à boa reprodutibilidade da linearidade.

Referências

1. ZUARDI, Antonio Waldo. History of cannabis as a medicine: a review. *Brazilian Journal of Psychiatry*, v. 28, n. 2, p. 153–157, 2006.
2. BRASIL. RDC Nº 327, DE 9 DE DEZEMBRO DE 2019. Dispõe sobre os procedimentos para a concessão da Autorização Sanitária para a fabricação e a importação, bem como estabelece requisitos para a comercialização, prescrição, a dispensação, o monitoramento e a fiscalização de produtos de Cannabis para fins medicinais, e dá outras providências. Brasília, 2019.
3. NICOLAOU, Athina G; et al. Analysis of cannabinoids in conventional and alternative biological matrices by liquid chromatography: Applications and challenges. *Journal of chromatography A/Journal of chromatography*, v. 1651, p. 462277–462277, 2021.
4. KRAEMER, Thomas; PAUL, Liane D. Bioanalytical procedures for determination of drugs of abuse in blood. *Analytical and bioanalytical chemistry/Analytical & bioanalytical chemistry*, v. 388, n. 7, p. 1415–1435, 2007.
5. KATAOKA, Hiroyuki; SAITO, Keita. Recent advances in SPME techniques in biomedical analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 54, n. 5, p. 926–950, 2011.
6. LESZCZYŃSKA, Dagmara; et al. Recent advances in the use of SPME for drug analysis in clinical, toxicological, and forensic medicine studies. *Talanta*, v. 270, p. 125613–125613, 2023.
7. SILVEIRA, Gabriela de Oliveira; LODDI, Silvana; DE OLIVEIRA, Carolina Dizioli Rodrigues; et al. Headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry for determination of cannabinoids in human breast milk. *Forensic Toxicology*, v. 35, n. 1, p. 125–132, 2016.