

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

**PERFIL QUÍMICO DE AMOSTRAS DE CANÁBIS APREENDIDAS NO ESTADO DO
RIO GRANDE DO SUL**

MARINA GONZÁLEZ

PORTO ALEGRE, 2018

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

**PERFIL QUÍMICO DE AMOSTRAS DE CANÁBIS APREENDIDAS NO ESTADO DO
RIO GRANDE DO SUL**

Dissertação apresentada por **Marina
González** para obtenção do GRAU DE
MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Profa. Dr^a. Renata Pereira Limberger

Co-Orientador: Dr. Rafael Scorsatto Ortiz

Porto Alegre, 2018

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 28.03.2018, pela banca examinadora constituída por:

Dr. Carlos Alberto Yasin Wayhs
Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Prof. Dr. Michel José Anzanello
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dr. Miriam Apel
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CIP - Catalogação na Publicação

González, Marina
PERFIL QUÍMICO DE AMOSTRAS DE CANÁBIS APREENDIDAS
NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL / Marina González. --
2018.
91 f.
Orientadora: Renata Pereira Limberger.

Coorientador: Rafael Scorsatto Ortiz.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto
Alegre, BR-RS, 2018.

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

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

Este trabalho foi desenvolvido sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Renata Pereira Limberger, no LABTOXICO / FACFAR / UFRGS - Laboratório de Análises e Pesquisa em Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em parceria com SETEC/PF/RS – Setor Técnico-Científico da Superintendência Regional da Polícia Federal do Rio Grande do Sul, os quais disponibilizaram os equipamentos e os materiais necessários para a realização dos experimentos práticos.

DEDICATÓRIA

Aos meus cinco pilares:

À minha mãe, **Beatris González** por moldar meu caráter, ser meu maior exemplo de tudo e por ensinar o que é persistência e esforço. Teu amor me move.

À minha tia, **Ana Maria do Carmo González** pelo apoio, paciência e incentivo.

Teu cuidado é vital.

À minha prima, **Letícia González Alfonso Henke** por pensar com clareza.

Tua parceria me mantém centrada.

À irmã de coração, **Gabriela Schonarth Regis**, que torna os desafios mais leves, que entende minhas dores e me encoraja a lutar todos os dias.

Tua amizade é um bem que transcende o tempo.

À caríssima amiga **Iêda Maria Scussiatto Zattera** pelo afinco profissional, pela integridade e pela eloquência arrebatadora e verdadeira que me inspira e me guia.

Tua amizade me dá força e foco.

**Estar ou não com vocês é a medida do meu tempo,
a vocês todo meu amor e admiração.**

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa de estudos.

A CAPES pelo edital PRÓ-FORENSES 25/2014 que proporcionou a concretização deste trabalho.

A minha orientadora Profa. Dra. Renata Pereira Limberger pela oportunidade e pelo aprimoramento da minha inteligência emocional.

Ao meu co-orientador Perito Criminal Federal Dr. Rafael Scorsatto Ortiz pelos trâmites legais, pelos conselhos assertivos e pelo suporte na Polícia Federal.

Ao Prof. Dr. Marco Ferrão pela sabedoria quimiométrica, pela paciência na divisão de conhecimento e pelo encorajamento.

Aos colegas do LABTOXICO e de Pós-Graduação, em especial: a Bruna Tassi Borille por me ajudar a dar os primeiros passos no mestrado e acreditar na minha capacidade; a Ana Laura Benvenuti pela clareza de pensamentos; a Taís Regina Fiorentin por sempre ser uma voz otimista e tranquila e a Jonathaline Apollo pela humildade e integridade.

À Perita Criminal Federal e colega de Pós-Graduação, Carina Bello, por conceder acesso ao equipamento necessário para o desenvolvimento desta pesquisa e por ser um apoio em dias difíceis.

À Papiloscopista Policial Federal, Dra. Kristiane de Cássia Mariotti pelo apoio profissional e pessoal, pelo carinho e destreza de atitudes.

À colega Maíra Kerpel dos Santos que me estimulou e me ensinou a pensar analiticamente, sendo uma parceria concreta muito além deste trabalho.

Às amigas que foram um suporte nestes últimos e dolorosos 138 dias, em especial: Franciane Bortolotti, Daniela Bones, Ana Moira Morás, Luiza Steffens, Carolina Panizzon Santini, Roberta Petry Gorziza.

“However difficult life may seem, there is always something you can do and succeed at. It matters that you don't just give up.”

- Stephen Hawking

RESUMO

A *Cannabis sativa L.* dá origem a substância ilícita mais utilizada e traficada do mundo, a maconha. Compreende-se por maconha as partes aéreas da planta secas, prensadas, preparadas como mistura para fumar. Atualmente, *Cannabis sativa L.* responde por 183 milhões dos usuários ativos, estando em primeiro lugar no ranking de tipos de drogas em uso no mundo. No Brasil, estima-se que cerca de 4% dos adolescentes e 6% dos adultos já tenha feito uso da droga. Tão preocupante quanto os dados sociais, o tráfico de maconha é amplamente difundido em todos os continentes. Em 2014, o Departamento da Polícia Federal (DPF) apreendeu mais de 200 toneladas de maconha em território nacional. A produção da droga profissionalizou-se, necessitando que a força policial e a ciência forense investissem em metodologias capazes de rastrear a sua origem. Objetivos: analisar o perfil químico de amostras de canábis e de maconha apreendidas pela Polícia Federal e análise de seus possíveis diluentes por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier com acessório de Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR) com aplicação de métodos não supervisionados de quimiometria no agrupamento e comparação dos resultados pelo software ChemoStat®. Métodos: as amostras foram trituradas e analisadas em triplicata diretamente no infravermelho, realizando *background* a cada amostra. Os espectros de infravermelho foram normalizados e foram feitas comparações entre amostras de canábis, maconha, canábis misturada aos diluentes e diluentes isolados, vendo suas semelhanças e diferenças químicas. Resultados: foi possível separar as amostras de canábis *indoor* e *outdoor* e diferenciar essas das amostras de maconha e a análise de diluentes complementou os achados quimiométricos, contribuindo para o agrupamento de amostras que inicialmente não se separavam. Conclusões: a metodologia de FTIR-ATR foi capaz de fornecer informações para o agrupamento das amostras por HCA e PCA, abrindo precedente na pesquisa em ciência forense sobre as diferenças entre canábis e maconha e para busca de diluentes e adulterantes nas amostras de maconha.

Palavras-chave: *Cannabis sativa L.*, maconha, perfil químico, FTIR-ATR, Infravermelho.

ABSTRACT

Cannabis sativa L. gives rise to the world's most widely used and trafficked illicit substance, marijuana. It is understood that marijuana is the aerial parts of the plant dried, pressed, prepared as a smoking mixture. Currently, *Cannabis sativa L.* accounts for 183 million active users, ranking first in the types of drugs in use. In Brazil, it is estimated that about 4% of adolescents and 6% of adults have already used this drug. As worrying as social data, marijuana trafficking is widespread on every continent. In 2014, the Federal Police Department (FPD) seized more than 200 tons of marijuana in Brazil. The production of the drug professionalized itself, necessitating that police force and the forensic science continue investing in methodologies able to trace their origins. Proposes: analyze the chemical profile of cannabis and marijuana samples seized by the Federal Police and to investigate their possible diluents by Fourier transform infrared spectroscopy with attenuated total reflectance (FTIR-ATR) with unsupervised methods of chemometrics in clusters and comparison of results with ChemoStat® Methods: the samples were ground and analyzed in triplicate directly in the infrared, performing background to each sample. Infrared spectra were normalized and comparisons were made between samples of cannabis, marijuana, cannabis mixed with diluents and isolated diluents, seeing their similarities and chemical differences. Results: it was possible to separate indoor and outdoor cannabis samples and to differentiate them from marijuana samples; diluents analysis complemented the chemometric findings, contributing to the grouping of samples that did not initially separate. Conclusions: FTIR-ATR methodology was able to provide information for clustering of samples by HCA and PCA, setting a precedent in forensic science research on the differences between cannabis and marijuana and for the search for diluents and adulterants in marijuana samples.

Keywords: *Cannabis sativa L.*, marijuana, chemical profiling, FTIR-ATR; infrared.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	23
2.1. Objetivo Geral.....	25
2.2 Objetivos Específicos	25
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
3.1. Histórico Social da Cannabis sativa L.	29
3.2 Lesgilação	37
3.3. Botânica	39
3.4 Fitoconstituintes e Biossíntese de Canabinoides	41
3.5 Diluentes, adulterantes e contaminação	43
3.6. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com Acessório de Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR)	47
3.7 Análise Multivariada de Dados (AMD).....	51
3.7.1. Métodos Não supervisionados (Análise Exploratória de Dados)	52
4 CAPÍTULO I - Artigo: Application of chemometrics by FTIR-ATR in marijuana samples seized by the Federal Police and influence of their possible diluents	55
4.1 Artigo.....	57
6 DISCUSSÃO GERAL	77
7. CONCLUSÕES	81
8. REFERÊNCIAS	85

1 INTRODUÇÃO

A maconha é a forma de apresentação mais comum da planta de única espécie monotípica *Cannabis sativa* L. (canábis) (SMALL, 2015). Difundida amplamente pelo planeta, ela é alvo de críticas e questionamentos sociais e científicos há mais de um século por conta de suas propriedades terapêuticas e nocivas a saúde (PASSAGLI, 2013).

No Brasil, maconha é o nome dado a forma de apresentação mais popular da canábis formada pelas folhas e pelas flores secas (inflorescências), prensadas, preparadas como mistura para fumar em cigarros ou narguilé, contendo teor variável da substância psicoativa e psicotrópica Δ -9-tetrahidrocanabinol (THC) entre outros (fito) canabinoides (ELSOHLY, 2007; UNODC, 2015).

Farmacologicamente classificada como perturbadora do Sistema Nervoso Central, a canábis, em suas diversas apresentações; possui mais de 750 substâncias químicas identificadas; dentre estas, encontram-se produtos naturais da classe dos monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, esteroides, compostos nitrogenados, além dos canabinoides que respondem por cerca de 100 dessas substâncias, sendo os metabólitos naturais da planta e de elevado interesse toxicológico (ELSOHLY, 2005; RADWAN, 2015). Para toxicologia forense, destacam-se o Δ -9-tetrahidrocanabinol (THC), canabinol (CBN) – produto de degradação do THC – e o canabidiol (CBD) (DE BACKER, 2012; HAPPYANA, 2013). O THC é o responsável pelos efeitos psicotomiméticos que podem gerar ansiedade e euforia, além de comprometer as funções executivas do indivíduo (MORGAN, 2010). Há indícios de que o CBD atue na modulação de THC, sendo antipsicótico e utilizado para fins terapêuticos, mas não está claro se isso é devido à farmacocinética e/ou interação farmacodinâmica (HUESTIS, 2007).

De fato, a canábis é a planta mais controversa da nossa sociedade, pois mesmo com propriedades terapêuticas, historicamente é uma droga ilícita de controle internacional e associada a uma gama de disfunções neurobiológicas. Assim, devido a sua associação ao crime e aos riscos à saúde, as pesquisas foram coibidas durante a primeira metade do século XX e na segunda metade do mesmo século, mesmo com o isolamento do THC em 1964 pelo químico israelense Raphael Mecholaum, as pesquisas acerca da planta e seus componentes pouco avançaram. (PAIN, 2015; SMALL, 2015).

Contudo, o mercado ilícito e o tráfico se expandiram expressivamente na última década. Graças ao desenvolvimento de tecnologias nas áreas da química e da biologia, surgiram espécies vegetais mais potentes em termos de concentração de princípios ativos psicotrópicos o que faz a canábis traficada hoje ter maior potencial dependógeno e de toxicidade relevante se comparada às amostras traficadas e apreendidas no século passado (UNODC, 2015; UNODC, 2017).

Segundo dados da Organização das Nações Unidas Contra Drogas e Crime (UNODC) de 2017, a *Cannabis sativa L.* responde por 183 milhões dos usuários ativos, estando em primeiro lugar no ranking de tipos de drogas em uso no mundo e, tão crescente quanto o uso também é a busca de tratamento para dependentes de maconha ou produtos de canábis, algo antes pouco relatado (UNODC, 2017). No Brasil, o estudo disponível do Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD), estimou que cerca de 4% dos adolescentes e 6% dos adultos já tenha feito uso de droga (LARANJEIRA, 2014). Tão preocupante quanto os dados sociais, é o tráfico de maconha que está amplamente difundido em todos os continentes, No Brasil, no ano de 2014, o Departamento da Polícia Federal apreendeu mais de 200 toneladas de maconha em território nacional (PF, 2014). Ressalta-se que as fronteiras brasileiras são continentais e isso dificulta o processo de fiscalização e é um facilitador para a difusão da droga pelo país. De acordo com o relatório anual da UNODC de 2015, casos individuais de apreensão de drogas, mostram que o tráfico por terra foi responsável por mais de 60% do total das quantidades apreendidas de drogas no geral e no número de casos de apreensões, com uma média de 190 kg por apreensão no período de 2009 a 2014. Em 2013, a América Latina e o Caribe responderam por até 30% do volume de apreensões mundial de canábis e seus produtos (UNODC, 2015); e, em 2015 a canábis segue como a droga ilícita mais tráfica do mundo, respondendo por 7317 toneladas entre erva e resina (UNODC, 2017).

O tráfico de drogas movimentam altos valores monetários e causa dano direto a sociedade seja na segurança ou na saúde pública; de encontro a esses fatos, consolida-se mais uma questão mundial: o narcoterrorismo; pois, o tráfico de drogas, financia diretamente conflitos mundiais e alimenta a corrupção, inclusive no Brasil (UNODC, 2017).

Diante do exposto, há uma necessidade de ampliação de pesquisas nas ciências forenses para busca de metodologias capazes de mapear o tráfico, fornecendo informações que possam ser utilizadas na inteligência policial, bem como subsidiar avanços para pesquisas acerca da canábis medicinal e para o tratamento de dependentes (UNDCP, 2011; ORTIZ, 2014; MARIOTTI, 2015).

Do ponto de vista de inteligência forense, os estudos de perfil químico (“drug profile”, “profiling”, “fingerprinting”, “assinatura química”) têm como objetivos provar quimicamente uma origem ilícita comum para materiais apreendidos em locais e datas diferentes. Com essas evidências, é possível provar judicialmente os crimes de formação de quadrilha (Lei nº 12.850/2013), associação ao crime (Artigo nº 288 do Código Penal) e associação à prática de tráfico de drogas (Artigo nº 35 da Lei 11.343/2006) (ORTIZ, 2014; ORTIZ E LIMBERGER, 2017).

Inúmeras metodologias instrumentais podem ser utilizadas e associadas aos estudos de perfil químico, sendo as mais utilizadas: Cromatografia em fase Gasosa associadas com Espectrometria de Massas (GC/MS) ou Detector de Ionização em Chamas (GC/FID); Cromatografia em fase Líquida associada com Espectrometria de Massas (LC/MS) e metodologias espectroscópicas como Infravermelho Próximo (NIRS) e Infravermelho com Transformada com Fourier e acessório de Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR). Neste trabalho, a metodologia de escolha foi a FTIR-ATR que, entre as características, tem a possibilidade de avaliar vários componentes de uma amostra usando uma única medida instrumental, não necessita de grande quantidade de amostra e é não destrutivo para a mesma (ORTIZ, 2014; ANZANELLO, 2015; BORILLE et al., 2017). Os resultados foram processados por Análise Multivariada de Dados (AMD), pois é possível analisar uma grande quantidade de amostras com inúmeras variáveis, o que torna o estudo mais fidedigno a realidade das amostras de apreensão (FERREIRA, 2015). O estudo da química complexa das amostras de apreensão pode estabelecer vínculos químicos entre amostras de distintas procedências, permitindo uma classificação em grupos (*clusters*) das amostras relacionadas (UNDCP, 2011; ORTIZ, 2014, FERREIRA, 2015). As técnicas exploratórias não supervisionadas de Análise dos Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Clusters (HCA) permitem a estruturação dos dados agrupando-os por semelhança química ou identificando discrepâncias nas amostras. Esse recurso estatístico já é implementado pelo Departamento da

Polícia Federal (DPF) para classificar, por exemplo, o perfil químico de medicamentos falsificados (ORTIZ, 2014) e o perfil químico da cocaína pelo Projeto PeQui, estabelecido em 2005 com apoio do Escritório das Organização das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC – *United Nations Office on Drugs and Crime*) (ORTIZ, 2014; MALDANER, 2013).

Neste contexto, este estudo teve como objetivo a análise do perfil químico de amostras apreendidas de canábis e maconha por FTIR-ATR com emprego da análise multivariada de dados. Adicionalmente, foi realizado um breve estudo dos possíveis diluentes incluídos nas amostras de apreensão proposital ou acidentalmente na tentativa de justificar as diferenças encontradas no agrupamento de dados.

Este projeto visou o desenvolvimento da Ciência Forense no âmbito das Ciências Farmacêuticas, conforme projeto aprovado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), junto ao Edital de Ciências Forenses nº 25/2014 - “PRÓ-FORENSES 3357/2014”, Processo nº 23038.006845/2014-9, o qual possui a coordenação geral da Profa. Dra. Renata Pereira Limberger, orientadora desta dissertação. Foi executado por meio do intercâmbio técnico-científico entre a Universidade Federal do Rio Grande do Sul, através da Faculdade de Farmácia, e a Superintendência de Polícia Federal no Rio Grande do Sul, conforme Convênio de Cooperação Técnico-Científica vigente entre a UFRGS, através do Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia, e o DPF/RS com a finalidade de estabelecer e regular os programas de Cooperação Técnico-Científica e de Formação e Capacitação de Recursos Humanos (Processo Nº 230780335780758).

A pesquisa realizada integrou o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Forense, que é um Instituto financiado pelo CNPq, CAPES e FAPERGS para ensino e pesquisa em Ciências Forenses.

2 OBJETVOS

2.1. Objetivo Geral

Análise de perfil químico de amostras de apreensão de canábis e maconha por FTIR-ATR com emprego de AMD.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Análise das amostras de canábis e maconha por FTIR - ATR;
- ✓ Análise de amostras de possíveis diluentes utilizados em misturas com maconha;
- ✓ Aplicação de AMD nos resultados por meio de PCA e HCA;
- ✓ Correlacionar os resultados quimiométricos das amostras de canábis, maconha e os possíveis diluentes.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Histórico Social da *Cannabis sativa* L.

A *Cannabis sativa* L. é uma planta às margens da história da sociedade. Seu registro data de 12000 anos atrás passando por civilizações da Ásia Central, sendo citada até na Pen Ts'ao, a Farmacopeia Chinesa com sugestivos poderes energéticos e, utilizada para diversos fins como a produção de fibras para cordas, roupas e artefatos de navegação. Fez-se presente na Grécia Antiga para “equilibrar” os cuidados com a saúde; em Roma, Dioscorides, médico do Imperador Romano Nero, listou a planta com o nome *C. sativa*. Esse nome foi adotado mais tarde em 1753 no compendio “Species Plantarum” por Carl von Linneaus quando da caracterização da planta. (ZUARDI, 2006; PAIN, 2015). A canábis foi se alastrando pelo mundo, presente em todos os continentes, especialmente depois dos europeus iniciarem as explorações marítimas. No entanto, os próprios europeus relataram que em continentes como América, civilizações pré-colombianas e índios já faziam uso da canábis em rituais religiosos, e na África várias tribos a usavam como medicamento (PASSAGLI, 2013). Na América, pelos colonizadores, inicialmente foi utilizada para produção de fibras; e especificamente no Brasil, a canábis provavelmente foi introduzida com a colonização portuguesa advinda de navios utilizados para o transporte de escravos; assim, seu uso ganhando espaço nas minorias a partir desse período (CARLINI, 2006; BALBINO, 2014).

Na Índia, na primeira metade do século XIX o médico William Brooke O'Shaughnessy estudou o potencial narcótico e medicinal da planta e depois de algumas pesquisas ela foi introduzida para do tratamento de doenças como a cólera, tétano e convulsões (ZUARDI, 2006; PAIN, 2015). Na virada para o século XX químicos britânicos isolaram o primeiro canabinoide, identificado como canabidiol (MECHOLAUM, 1995; MECHOLAUM, 2014). Na primeira metade do século XX foi amplamente utilizada como medicamento sedativo, analgésico, para palpitações cardíacas, diarreia e até mesmo, diabetes (MECHOLAUM, 2014; PAIN, 2015). As pesquisas farmacológicas iniciaram entre as décadas de 1930 e 1960, período em que se impuseram restrições legais ao uso médico (CARLINI, 2006)

A Conferência Internacional do Ópio (1912) foi a primeira reunião que gerou um tratado internacional sobre o controle internacional de drogas. Revisto em 1924,

o tratado recomendou a proibição do haxixe, uma das formas de apresentação da canábis para uso recreativo sob o seguinte texto:

“O uso de cânhamo indiano e a preparação de produtos derivados só podem ser autorizados para fins médicos e científicos. A resina crua (charas), no entanto, que é extraída dos exemplares femininos da Cannabis sativa, juntamente com as suas diversas preparações obtidas a partir dela (haxixe, chira, diamba, etc), as quais não são utilizadas para fins médicos e só é usada para fins prejudiciais, da mesma maneira como outros narcóticos, não podem ser produzidas, vendidas, comercializadas, etc, em qualquer hipótese.”
(WILLOUGHBY, 1925).

A partir do tratado dessa Conferência, em 1938, o Decreto-Lei nº 891 do Governo Federal houve a proibição total do plantio, cultura, colheita e exploração por particulares da planta em todo o país (CARLINI, 2006; BALBINO, 2014). Com essa Conferência, outros países como Canadá proibiram o cultivo de canábis. Nos Estados Unidos, em 1937, foi aplicada a “Lei do Imposto de Marihuana”, com esta lei quem quisesse fazer uso da planta teria que pagar taxas, sob pena de multa e prisão caso não cumprisse a lei, essa medida acabou com o plantio de canábis no país. (SMALL, 2015; BALBINO, 2014). Essa lei foi inserida na sociedade norte-americana em meio a um período de transições sociais e econômicas em que a sociedade recém havia saído do período de Lei-Seca que perdurou por toda década de 1920. Naquela época, até mesmo a indústria cinematográfica norte-americana produziu filmes com a temática sobre o uso de maconha, alguns deles: *Reefer Madness* (1936), *Marihuana* (1936) *The Devil’s Weed* (1949) (Figura 1), relacionando-a a distúrbios psicóticos que levava a medidas extremas como homicídio, suicídio e tentativas de estupro (HILLIG, 2004;IMDB, 2018).



Figura 1 - Filmes com temática sobre canábis.
Fonte: IMDB, 2018.

Na segunda metade do século XX, movimentos políticos e sociais agitaram o mundo, com o término da II Guerra Mundial, início da Guerra Fria, período da Guerra do Vietnã, os movimentos de contracultura, a instauração de ditaduras militares na América Latina e a luta precursora da revolução feminista expuseram ao mundo uma vontade de liberdade e hedonismo. Assim, a canábis volta ao cenário como uma forma de fuga desses conflitos e/ou afirmação de livre arbítrio, e acaba por marcar grupos sociais como imigrantes, negros, jovens e hippies (ZUARDI, 2006). Foi na década de 1960 que a canábis ganhou seu lugar na população mais jovem e, desde então seu uso vem aumentando gradativamente, sendo a droga ilícita mais consumida no mundo com uma prevalência cinco vezes maior em relação a outras drogas (UNODC, 2015; UNODC, 2017). As pesquisas em torno da canábis iniciaram efetivamente em 1964 com o químico israelense Raphael Mecholaum que isolou e elucidou a estrutura do canabinoide psicoativo da planta, o $\Delta 9$ – tetrahydrocannabinol ($\Delta 9$ – THC ou THC), a partir daí surgiram vários estudos acerca dos componentes da planta e dos efeitos farmacológicos e fisiológicos (ZUARDI, 2006; MECHOLAUM, 2014, PAIN, 2015).

No entanto, as pesquisas estagnaram 10 anos depois, sendo retomadas somente nos anos de 1990 por consequência de estudos neurobiológicos de receptores cerebrais. Esses estudos levaram a descoberta de receptores específicos para canabinoides: o CB1 e o CB2. Dentro do sistema nervoso central, o CB1 está primariamente localizado nos terminais nervosos pré-sinápticos e é responsável pela maioria dos efeitos neurocomportamentais dos canabinoides, por exemplo, os efeitos psicoativos do THC (DI MARZO, 2015).

O CB2, ao contrário, é o principal receptor de canabinoides no sistema imune, mas também pode expressar-se nos neurônios (DI MARZO, 2015). Se o corpo humano possui receptores para este conjunto de substâncias exógenas, as pesquisas levaram a crer que existiam endocanabinoides, ou seja, produzido no organismo humano. Então, duas novas substâncias foram descobertas: N-araquidonil-etanolamina (anandamida - AEA) e 2- araquidonil-glicerol (MECHOLAUM, 1995; MECHOLAUM, 2014).

Da década de 1990 até os dias atuais avanços foram feitos nas pesquisas com canábis levando em conta o amplo interesse e vasto uso, porém, existem lacunas a serem preenchidas, principalmente no que diz respeito às questões legais frente às diferenças de consumo recreativo e ao uso medicinal e às diferenças de apresentação para uso como drogas de abuso (Tabela 1).

É fundamental que haja um esclarecimento de conceitos sobre as diferenças entre *Cannabis sativa L*, a canábis, e maconha. A canábis é uma planta repleta de substâncias com potenciais farmacológicos e toxicológicos que mediante pesquisa pode ter algumas de suas substâncias isoladas, sintetizadas a fim de serem utilizadas para fins terapêuticos e medicinais. A exemplo tem-se o CBD, um dos canabinoides que utilizado sozinho ou em proporção com THC (CBD modula os efeitos do THC) pode ajudar na minimização dos sintomas de espasticidade moderada a grave devido à esclerose múltipla. Esse medicamento foi autorizado no Brasil em novembro de 2016 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ELSOHLY, 2007; ANVISA, 2016). Portanto, utilizar o termo “maconha medicinal” está incorreto. Nesse caso, a partir da planta foi produzido um medicamento com substâncias isoladas, de concentração conhecida e de forma farmacêutica condizente para o uso terapêutico.

Já a maconha são as partes aéreas da planta como folhas e inflorescências secas e trituradas preparadas como mistura para fumar; esta forma não apresenta benefícios, pois não se sabe quais as substâncias estão presentes em sua composição já que além dos canabinoides pode haver agrotóxicos e inclusão de diluentes e adulterantes (MAGALHÃES, 2013); não se sabe quais as concentrações dessas substâncias e se possuir elevadosteoeres de THC, por exemplo, podem causar problemas neurológicos graves desde perda das funções executivas até ser um gatilho para o desenvolvimento de esquizofrenia (HUESTIS, 2007).

Tabela 1 – Tipos mais comuns de formas de beneficiamento da *Cannabis sativa L.*. Os valores de médios de THC são resultado de pesquisa prática, são variáveis de planta para planta e de técnica de extração.

Apresentações mais comuns da <i>Cannabis sativa L.</i>	Parte da Planta / Teor Médio de THC
MACONHA	No Brasil, é o nome dado às partes aéreas, preparada como mistura para fumar em cigarros ou narguilé, contendo um teor de variável de THC que pode chegar a mais de 25%.
HAXIXE	Preparação mais apurada, utilizando apenas a resina seca que envolve as inflorescências da planta fêmea, podendo chegar a teor de 40% de THC.
ÓLEO DE HASH	Óleo essencial extraído da canábis com solvente orgânico apolar. Usado na indústria alimentícia para fazer produtos de a base dos canabinoides da planta. Contém de 15% a 60% de THC.
SKUNK OU SKANK (APRESENTAÇÕES HÍBRIDAS)	O cultivo caseiro ou em estufas (<i>indoor</i>), associada à engenharia genética que produz plantas híbridas com altas concentrações de THC. O mais conhecido em nosso meio é o skunk com média de 30% de THC. Mas em outras variedades podem ultrapassar 45% de THC.
SINSEMILLA (SEM SEMENTE)* *técnica de cultivo	Droga sem semente que só contém botões e flores da planta fêmea. Contém cerca de 30% de THC.

Fonte: adaptado de UNODC, 2009; ELSOHLY, 2007; UNODC, 2015.

Atualmente, estima-se que 5% da população mundial em 2015 utilizou algum tipo de substância psicotrópica ilícita, desses, cerca de 29,5 milhões de pessoas, ou seja, 0,6% da população mundial sofrem de algum distúrbio relacionado ao uso de drogas e, a cada ano, é crescente a busca por tratamentos relacionados a dependência, inclusive para maconha (UNODC, 2017). Tão delicado quanto os dados de saúde pública, é o crescente número de apreensões de canábis na forma de maconha ou como resina, em 2015, foram 7317 toneladas, sendo 30% das apreensões na América Latina (UNODC, 2017). Talvez na tentativa de diminuir esses alarmantes números, acreditando diminuir o tráfico de drogas, nos últimos 20 anos houve um aumento de países fazendo a descriminalização e/ou a legalização do uso de canábis seja para uso recreacional e/ou medicinal (UNODC, 2017). Em países como os Estados Unidos, a indústria da canábis arrecada milhões de dólares

e é tida como a indústria substitutiva do comércio de tabaco (UNODC, 2017). Mundialmente, até o ano de 2016, mais de 25 países já haviam feito a descriminalização, entre eles pode-se citar: Canadá, República Tcheca, Portugal, alguns estados dos Estados Unidos e mais recentemente, o Uruguai (UNODC, 2017). Cada país possui sua legislação sobre drogas; no Brasil, por exemplo, a Lei 11.343/2006 revogou a Lei 6.383/1976 que era contra as drogas; agora, o país tem uma lei sobre drogas. Esse posicionamento coloca a dependência química como uma questão de saúde pública e o tráfico de drogas como uma responsabilidade da segurança pública (ORTIZ e LIMBERGER, 2017). Na prática judicial, isso significa que o usuário de drogas terá uma pena menor em relação ao traficante, porém, não há determinação legal clara em como diferir um traficante de um usuário, isso é avaliado caso a caso pela justiça (ORTIZ e LIMBERGER, 2017).

No mercado ilegal mundial, o lucro estimado do tráfico de maconha gira em torno de 300 bilhões de dólares, em países como os Estados Unidos, o crescimento anual da “indústria da maconha” chega a 25% e estima-se que os lucros com esse mercado, até 2020, devam chegar a 22 bilhões de dólares. Atualmente, o mercado legal de canábis responde por 10% dos lucros no setor nos Estados Unidos, e o crescimento não é maior porque a indústria bate de frente com as legislações. Os Estados Unidos são uma economia de mercado sólida em que, a princípio não tem o Estado como grande regulador das transações comerciais, mas em se tratando da canábis, as legislações estaduais são as responsáveis por regulamentar o cultivo, o beneficiamento dos produtos a partir da planta e os produtos criados para assessorar essa indústria; e quando os comerciantes recolhem o dinheiro do lucro encontram problemas em depositar e investir nos bancos nacionais que são controlados pela legislação federal, ou seja, eles não podem receber dinheiro de operações consideradas ilegais pela legislação federal. No entanto, esse não é o maior problema que o país tem enfrentado com a canábis, estados como o do Colorado estão com graves problemas de intoxicações agudas em crianças que fizeram uso acidental de balas, bolos, chocolates e refrigerantes que contém THC; o número de acidentes de trânsito de jovens entre 16 e 30 anos atingiu níveis recordes (Figura 2) (SAMSHA, 2017; UNODC, 2017).

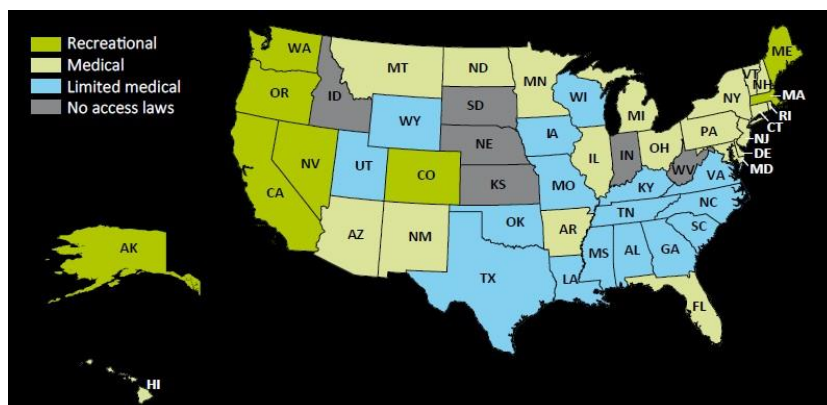


Figura 2 – Estados norte-americanos que legalizaram a maconha para fins recreacionais e médicos.
 Fonte: UNODC, 2017

No que diz respeito ao tráfico de canábis no território brasileiro, em 2013 o Departamento da Polícia Federal (DPF), erradicou mais de 37 hectares de canábis, o que equivale a mais de 900.000 plantas (UNODC, 2015) ou pouco mais de 200 toneladas de erva (PF, 2014). Ao se pesquisar o perfil químico da maconha bruta apreendida, tem-se a possibilidade de ampliar o delineamento investigativo para setores de inteligência que setorizam regiões de tráfico, além de fornecer resultados para a inteligência policial que podem agrupar regiões de produção da droga, bem como as regiões de tráfico. Assim, é possível vincular usuários e fornecedores por meio de padrões de origem e distribuição, sendo um modo de individualizar as regiões de produção (UNDCP, 2011; ORTIZ, 2014; MARIOTTI, 2015). Desse modo, é possível viabilizar informações acerca das apreensões de maconha no país e esses dados podem ser combinados com os resultados de investigações que servem para estabelecer uma conexão entre quadrilhas e fornecedores (UNDCP, 2011).

No Brasil, de acordo com um cálculo feito pela câmara dos deputados, se a maconha fosse legalizada no país e ganhasse status de indústria com pagamento de impostos, e se cada um desses 2,7 milhões de brasileiros que já experimentaram maconha em 2015 comprasse 40 g/mês os lucros girariam em torno de 5,69 bilhões de dólares por ano. Até o momento, existem dois projetos de lei que pretendem lidar com a legalização da canábis: Projeto de Lei nº 7270/2014 apensado ao Projeto de Lei 7187/2014, ambos dispõem “sobre o controle, a plantação, o cultivo, a colheita, a produção, a aquisição, o armazenamento, a comercialização e a distribuição de maconha (*Cannabis sativa*) e seus derivados (...)” (BRASIL, 2014). O fato é que

quanto mais à disposição uma substância está, maior o número de pessoas que fará seu uso (LARANJEIRAS, 2009). Além disso, é necessário lembrar que quase todo produto legal no Brasil é taxado com impostos e, por questões sociais e econômicas, na maioria das vezes se existe a possibilidade de adquirir um produto livre de impostos, ainda que seja por meios não usuais e até ilegais, haverá uma preferência por tal. Por disso, sempre haverá um problema relacionado ao tráfico de drogas seja com a maconha ou com outras substâncias ilícitas.

Assim, colocar a sociedade diante de mais um risco iminente é irresponsabilidade; a legalização recreativa da canábis ou de outras drogas refletirá diretamente na saúde pública com elevação de casos de toxicodependência, acidentes de trânsito e distúrbios psiquiátricos; na educação com déficits de aprendizado e queda no desempenho escolar e no desenvolvimento social, pois apesar de normalmente o uso de drogas estar ligado a um evento para interação e desinibição, o indivíduo se isola para fazer uso, quando dependente. Soma-se a isso, o fato de jovens estarem sendo apresentados mais precocemente às drogas sem o desenvolvimento completo de suas funções cognitivas, podendo prejudicar habilidades sociais além de seu desenvolvimento profissional (CARLINI, 2006).

Sobre as diferenças históricas, sociais e educacionais que circundam a sociedade ocidental, há uma preferência de acesso às liberdades individuais e ao livre-arbítrio. Ou seja, os produtos vendidos e as leis implementadas têm como foco o indivíduo na sociedade, preocupado com suas vontades e sem um pensamento coletivo articulado. Assim, ser cidadão é contribuir com o desenvolvimento da sociedade se as próprias liberdades não forem afetadas. Já na sociedade oriental, o pensamento coletivo é exercitado como forma do indivíduo ser o contribuinte da sociedade sem se atentar as questões pessoais e individuais, ainda que exista o livre-arbítrio e a liberdade.

Portanto, transportando esse tema para a descriminalização e legalização da canábis e/ou da maconha, é importante que a sociedade pese as consequências de seu uso e de outras substâncias legais ou não já para sociedade. Um indivíduo usuário precoce de drogas (lícitas e/ou ilícitas) pode desenvolver dependência e isso poderá afetar seu desenvolvimento profissional e pessoal, além de não contribuir para o avanço da sociedade. Essa é a principal justificativa de enrijecimento das leis sobre legalização de substâncias entorpecentes em países como Laos, Vietnã,

Tailândia, Filipinas e Japão. Esses países defendem que um cidadão deve contribuir com o desenvolvimento da sociedade; e para isso, o indivíduo para ser cidadão deve ser saudável para ter chances de se profissionalizar e desenvolver uma família, contribuindo para o avanço social e econômico do país (LARANJEIRA, 2014; UNODC, 2017).

Por isso, ao formular opinião sobre ser a favor ou contra a descriminalização ou a legalização da canábis e/ou da maconha ou sobre o uso da planta para pesquisas médicas, é importante saber diferenciar os conceitos e contextos que envolvem as diferentes formas de uso.

3.2 Lesgilação

A Conferência Internacional do Ópio (1912) foi a primeira que decidiu fazer o controle de entorpecentes de modo internacional e, quando foi revista em 1924 teve a inclusão do haxixe e da maconha. Então, a partir da década de 1930 em muitos países começaram a ser implementadas muitas leis regulando a posse, o uso, produção e venda de produtos a base de canábis (ELSOHLY, 2007).

Em 1961, a Convenção Única sobre Entorpecentes, foi uma tentativa de harmonizar as ações de diversos países em relação aos entorpecentes, por meio dos seus 51 artigos, com detalhes de fiscalização, substâncias a serem controladas, limites de fabricação de substâncias, órgãos de controle, entre outras diretrizes e, no Brasil, promulgada através do Decreto no 54.216 de 27 de agosto de 1964. (CARLINI, 2006; ELSOHLY, 2007; BORILLE, 2016).

Em 14 de Março de 1977 foi promulgada a Convenção sobre Substâncias Psicotrópicas, em função da aprovação pelo Congresso Nacional do texto da Convenção sobre Substâncias Psicotrópicas em Viena, no ano 1971. Esta Convenção contém 33 artigos que tratam de diretrizes para controle de fabricação, comércio, medidas de fiscalização, além de ações para inibir o tráfico de substâncias psicotrópicas (BRASIL, 1977; CARLINI, 2006; BORILLE, 2016).

É possível observar a introdução de um dos canabinoides originados da *Cannabis sativa L.* como uma substância psicotrópica, capaz de causar dependência, e não a resina da planta, como constava até então na Convenção Única sobre Entorpecentes, de 1961. Este refinamento, na caracterização de

substâncias capazes de induzir dependência, foi fruto do avanço no estudo da composição química da planta de *Cannabis sativa L.*, com o isolamento de canabinoides, sua elucidação estrutural e posteriores estudos fitoquímicos, farmacológicos e toxicológicos (UNODC, 2009; UNDCP, 2011; BORILLE, 2016).

Em 1998 foi promulgada a Portaria no 344 pela Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, aprovando o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. Esta Portaria foi um avanço nesta área de psicotrópicos no Brasil, contendo 110 artigos, com capítulos dedicados à Autorização, Comércio, Transporte, Prescrição, além da criação de dezesseis Listas contendo todas as substâncias psicotrópicas e entorpecentes proscritas no país, com detalhes para o controle das mesmas. Esta Portaria revogou inúmeros dispositivos legais vigentes até então, unificando todo o controle numa só normatização. Estas Listas sofrem acréscimos ou supressões ao longo do tempo, bem como mudanças de classificação, mas a Portaria mantém-se igual desde sua promulgação (BRASIL, 1998).

Em 2006 foi aprovada a lei que mudou as diretrizes sobre o posicionamento de tráfico e uso de drogas no Brasil. A Lei 11.343 de 23 de agosto de 2006 revogou a antiga Lei de Drogas (Lei 6.368/76). Além de criar o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas para substituir o antigo Sistema Nacional Antidrogas, a nova lei simbolizou um novo olhar do legislador sobre a questão do tráfico de drogas. Diz-se que agora o Brasil possui uma lei sobre drogas de drogas, isso significa a diferenciação entre usuário e traficante. Para o usuário as penas são mais brandas, mas ainda sim é crime fazer uso de substâncias ilícitas. Assim, questões ligadas ao uso de drogas foram para esfera da saúde pública, lançando o problema do tráfico diretamente para segurança pública (BRASIL, 2006; ORTIZ E LIMBERGER, 2017).

Até a presente data, várias listas da Portaria 344/1998 foram publicadas de acordo com as descobertas feitas tanto pela inteligência forense quanto pela saúde; e o principal desafio da justiça; da força policial e da perícia oficial, e das pesquisas em torno da saúde para tratamento de dependentes ou de novas terapias é a tênue linha de entendimento dos legisladores entre o que é de fato uma droga de abuso, o que é um medicamento e como diferenciar usuários de traficantes.

3.3. Botânica

Embora haja constante discussão em referência à classificação botânica da canábis (SMALL E CRONQUIST, 1976; SMALL, 2015;) desde que ela foi classificada pela primeira vez em 1753, pelo botânico sueco Carolus Linnaeus (Carl Von Linné), o “Manual para uso dos laboratórios nacionais de análises de drogas” do Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime considera que a planta apresenta apenas uma espécie reconhecida, sendo ela a *Cannabis sativa* L. (Linnaeus). Outras espécies relatadas para o gênero, como *C. sativa* subsp. *sativa*, *C. sativa* subsp. *indica*, *C. sativa* subsp. *ruderalis*, *C. sativa* subsp. *spontanea*, *C. sativa* subsp. *kafiristanca* atualmente são reconhecidas como subespécies da *C. sativa* L. (Figura 3) (SMALL, CRONQUIST, 1976; SMALL, 2015;BORILLE, 2016).

Ainda, devido à dificuldade de distinguir as subespécies da planta tanto química como morfológicamente, uma vez que a canábis apresenta contínuas modificações conforme o ambiente em que foi plantada, a denominação *C. sativa* é considerada adequada para todas as plantas encontradas deste gênero (UNODC, 2009; BORILLE, 2016).

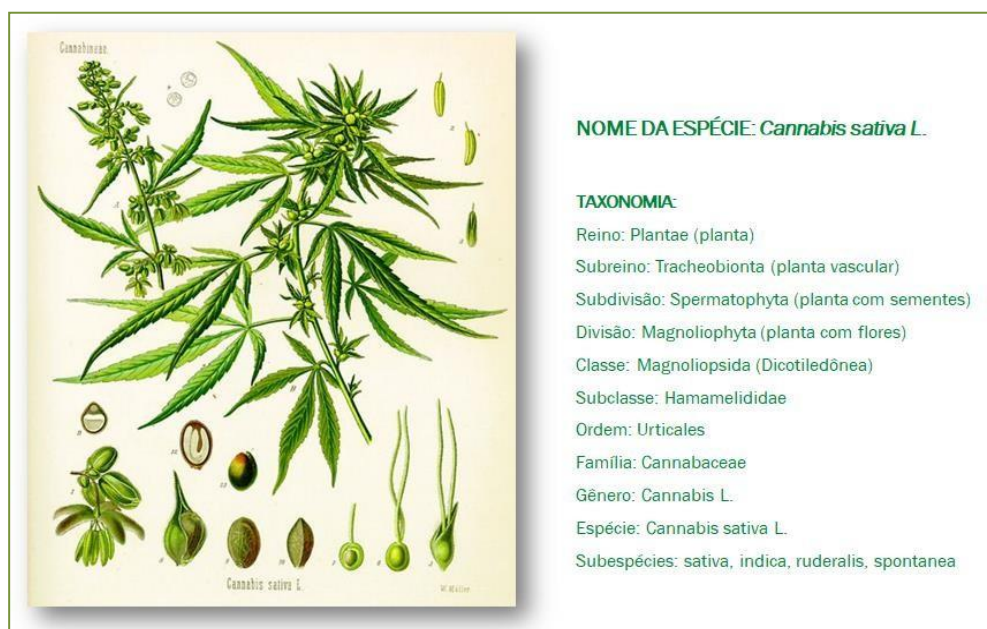


Figura 3 – Classificação botânica da canábis segundo *United States Department of Agriculture* (2016).

Fonte imagem: UNODC, 2009.

A canábis é uma planta angiosperma, ou seja, suas sementes são protegidas pelos aquênios, semelhante a uma pequena noz seca. Essa estrutura possui dois cotilédones, portanto, é uma espécie dicotiledônea em que há grande substância de reserva. Geralmente são diócas, tendo um representante macho e uma fêmea da espécie. As fêmeas possuem os pistilos robustos, onde se concentram a maior parte dos canabinoides. Inicialmente, a floração é imperceptível, mas ao longo do desenvolvimento é possível ver que as plantas machos possuem os estames mais altos e esguios, enquanto que a fêmea é repleta de inflorescências cheias. A canábis também pode ter representantes monóicas, compreendendo ambos os sexos em uma única planta (UNODC, 2009; AMADUCCI, 2015).

O cultivo da canábis exige ambientes ensolarados, com solos neutros a alcalinos, abundância de água e nutrientes. (SALENTIJN, 2015). Existem muitos fatores ambientais que podem alterar a síntese e a concentração de canabinoides na planta, o período de luminosidade (fotoperiodismo) é um fator crucial, pois os fitocanabinoides são fotossensíveis, ou seja quanto maior a exposição solar, maior o rendimento. Porém, o que define o período de floração é o período de escuro. Dias mais curtos, portanto noites mais longas, induzem o início da floração e estimulam a planta a completar seu ciclo de vida. A floração inicia geralmente quando o período de escuro excede 11 horas por dia, esse período pode durar de 4 a 12 semanas (Figura 4) (ELSOHLY, 2007; HAZEKAMP, 2007).

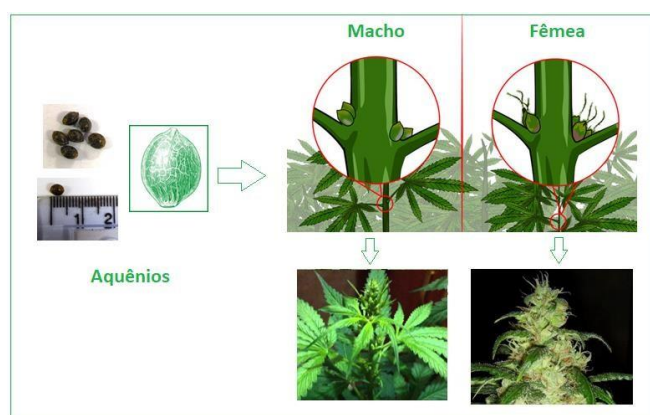


Figura 4 – Aquênios (sementes) e diferenciação sexual da Canábis
Fonte: imagens e desenhos de wiki; Sementes de amostras reais, Polícia Federal (2014).

A planta fêmea produz vários cachos de flores individuais e, ao invés de fixar as sementes nos primeiros cachos, ela continua a produzir flores adicionais ricas em

uma resina contendo terpenos e canabinoides, proveniente dos tricomas (ELSOHLY, 2007). A genética é determinante do sexo da planta, mas a canábis é um bom exemplo de como as alterações edafoclimáticas podem modificar as características sexuais da planta, formando até mesmo plantas hermafroditas. As hermafroditas naturais geralmente são estéreis, mas as induzidas artificialmente possuem órgãos totalmente funcionais. Em cultivos indoor, há uma prioridade por plantas fêmeas por produzirem maior concentração de canabinoides; as sementes são cultivadas em condições especiais a fim de desenvolverem plantas fêmeas (ELSOHLY, 2007).

Existem duas formas de cultivo da canábis: outdoor e indoor. Outdoor ou ao ar livre é realizada por meio de sementes. O cultivo indoor é realizado em estufa, normalmente com luz artificial, soluções nutritivas em vez de solo, ou adição de aditivos indutores de crescimento; há um controle de umidade, luminosidade e as condições ótimas pedem um pH entre 6,5 e 7,0. Também existe a possibilidade de cultivo hidropônico com pH mais ácido entre 5,2 e 5,8. O cultivo indoor inicia-se em períodos longos de luz de até 24 horas e depois para indução de floração o período é alterado para 12 horas de luz e 12 horas de escuro (ELSOHLY, 2007; UNODC, 2009). Também é possível fazer cultivo de sinsemilla em ambiente externo, mas isso exige a eliminação de plantas masculinas antes da polinização.

O termo sinsemilla refere-se a uma técnica de cultivo e não a uma linhagem nova de canábis; por essa técnica são cultivadas apenas plantas fêmeas, sem exposição ao pólen, assim, elas não serão fertilizadas e não formarão sementes. Com isso, é possível fazer mudas apenas de plantas fêmeas que possuem um maior acúmulo de metabólitos secundários e de fitocanabinoides (ELSOHLY, 2007; UNODC, 2009).

3.4 Fitoconstituintes e Biossíntese de Canabinoides

Em torno de 750 constituintes químicos foram encontrados na *Cannabis sativa* L., destes, encontram-se produtos naturais da classe dos monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, esteroides, compostos nitrogenados, além dos canabinoides, os metabólitos naturais de importância toxicológica (RADWAN, 2015).

Os terpenos são os responsáveis por dar o aroma típico da canábis, em especial pela presença do sesquiterpeno óxido de cariofileno, formando os óleos

essenciais das plantas a partir de unidades isopreno (C₅H₈) (AIZPURUA-OLAIZOLA, 2016). Os mono e sesquiterpenos são os responsáveis pelas características organolépticas das variedades de canábis, eles variam na quantidade e na concentração de acordo com as condições de cultivo (AIZPURUA-OLAIZOLA, 2016).

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

As vias de formação dos canabinoides, têm como origem biossintética a via dos terpenoides. O componente geranyl pirofosfato é formado como um precursor na canábis, sendo este o composto comum de origem tanto para os canabinoides como para os terpenoides. O terpenoide geranyl pirofosfato pode se acoplar com frações fenólicas com cadeias laterais pentil (ácido olivetólico), formando os canabinoides C₂₁ (Figura 5).

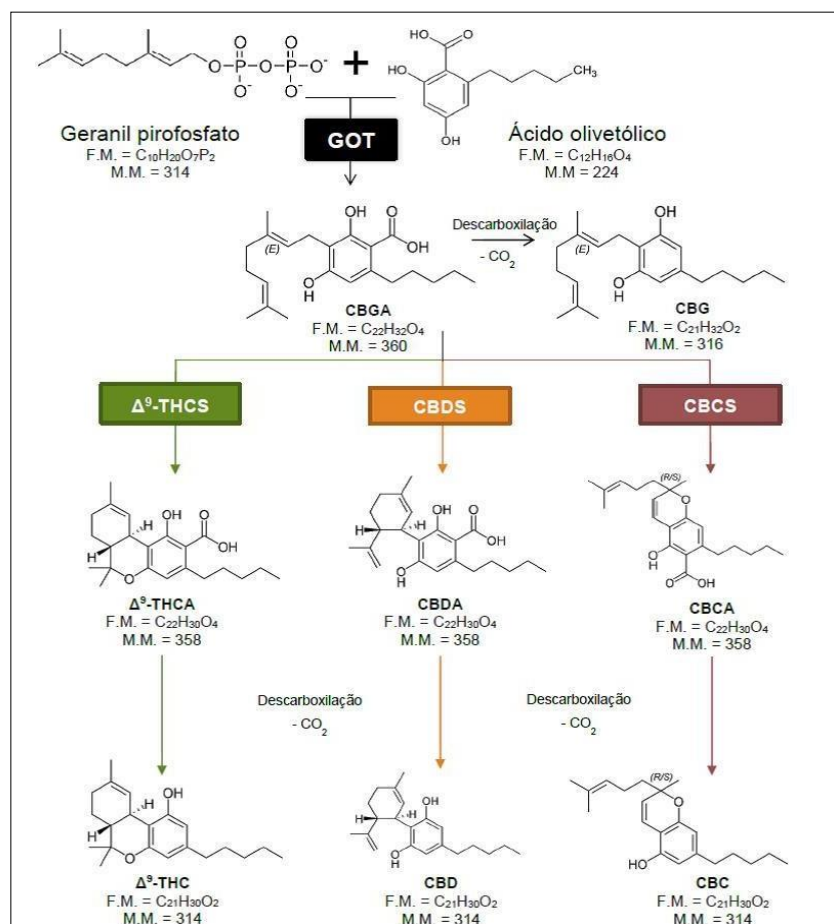


Figura 5 – Esquema de biossíntese dos canabinoides. GOT:geranyl pirofosfato- olivetolato geranyl transferase; CBGA: ácido canabigerólico; CBG: canabigerol; Δ^9 - THCA: ácido Δ^9 -tetrahydrocanabinólico; CBDA: ácido canabidiólico; CBCA: ácido canabicromênico; Δ^9 -THCAS: ácido Δ^9 -tetrahydrocanabinólica sintase; CBDAS: ácido canabidiólica sintase; CBCAS: ácido canabicromênica sintase; Δ^9 -THC: Δ^9 -tetrahydrocanabinol; CBD: canabidiol; CBC: canabicromeno.

Fonte: BORILLE, 2016. Adaptado de SALENTIJIN et al., 2015.

3.5 Diluentes, adulterantes e contaminação

Os diluentes são substâncias farmacologicamente inativas que podem ser adicionadas as drogas de abuso com a finalidade de aumentar o volume total dasubstância. Diferente dos adulterantes, que são substâncias adicionadas com intuito de mimetizar os efeitos das drogas de abuso, ou seja, possuem propriedades farmacológicas. No entanto, ambos têm finalidade de aumentar os lucros daqueles que a produzem e Independente de alterar ou não o efeito, a adição dessas substâncias pode somar ou agravar efeitos das drogas no organismo (MAGALHÃES, 2013).

Determinar a natureza dos eventuais contaminantes significa deduzir quais foram os produtos utilizados na preparação de determinada amostra de droga. Essas informações permitem, por exemplo, que as listas de insumos químicos potencialmente aplicáveis em processos de elaboração de substâncias entorpecentes / psicotrópicas mantenham-se constantemente atualizadas. Se em determinado momento a detecção de traços de determinada substância torna-se uma rotina sobre tal droga, devem incidir todos os mecanismos de controle usuais para essas substâncias (FERNANDO, 2013).

Até a presente data, no Brasil, existe uma vasta literatura sobre a adição de adulterantes presente na cocaína, fruto do projeto PeQui – Perfil Químico implementado pela Polícia Federal. A Polícia Federal Brasileira implementou, em 2006, o Projeto PeQui (Perfil Químico de Drogas) com o objetivo de auxiliar as investigações policiais com base nos estudos feitos em drogas apreendidas. Grande parte do projeto é voltada à cocaína pelo fato de o Brasil ser parte importante da rota de tráfico de toneladas de cocaína em diversas formas de apresentação que são apreendidas todos os anos. Com base nestes dados, peritos criminais federais visitaram diversos laboratórios forenses de referência em diversos países com o objetivo de adquirir conhecimento e iniciar uma cooperação entre os países (ZACCA, 2014). Após a identificação de diversas amostras de cocaína apreendidas utilizando padrões laboratoriais pré-estabelecidos, percebeu-se que de acordo com a composição química da droga, ou seja, os tipos e a quantidade de adulterantes que são identificados, era possível inferir de qual país esta cocaína teria sido exportada.

Neste contexto, a força tarefa da Polícia Federal utiliza esses dados como base para auxiliar a tomada de decisões referentes à logística de pessoal, aumento do patrulhamento de fronteira com o país em que esteja havendo uma alta exportação de cocaína para o Brasil e para o exterior. Além disso, identifica como a rota de tráfico se dá e por quais locais a droga passa antes de sair do país (ZACCA, 2014). Por fim, é oportuno apontar a importância da cooperação entre laboratórios forenses brasileiros e de outros países, pois sabe-se que boa parte da cocaína que chega a estes países passa antes pelo Brasil e por diversos países da América Latina (ZACCA, 2014; REITZEL, 2016).

Esses dados fornecem informações não apenas para inteligência policial para conexão entre produtores e traficantes, mas traz um conhecimento para o manejo de usuários dessa substância. Existem outras drogas investigadas que relatam uso de diluentes e de adulterantes ou ainda de uma substituição de composto ativo; ou seja, a troca de uma droga por outra por possuírem efeitos similares mais intensos ou moderados, é o caso da dietilamida do ácido lisérgico (LSD) que tem sido substituída por N-Benzil-Oxi-Metil, conhecido como substâncias da classe dos NBOmes (ZACCA, 2014).

No que diz respeito à maconha são mínimos os estudos acerca da sua contaminação, existem alguns relatos de adição de diluentes e adulterantes em estudos em que o foco são outras substâncias como as citadas acima. A maconha, por ser uma droga barata e por ser vastamente ofertada, apesar de proscrita, pode não ser o foco para uma pesquisa aprofundada de diluentes e/ou de adulterantes; porém, dado o número de usuários, muitas questões têm sido levantadas e uma investigação do tema pode auxiliar nessas situações.

Dentre os relatos da literatura, os principais compostos adulterantes estão a lidocaína, um agente diluente e anestésico local; o tabaco, produto preparado a partir de folhas de plantas do gênero *Nicotiana* L. a qual contém a nicotina, um alcaloide de propriedades colinérgicas, utilizada para mascarar uma maconha de baixa qualidade pois interfere na toxicocinética do THC aumentando a absorção deste e estimulação do uso em função das propriedades viciantes da nicotina (MACPARTLAND, 2008; FIBLEY, 2015). A cocaína também é adicionada a maconha, muitas vezes na forma de crack – chamado de pitico - utilizada para aumentar o efeito psicotrópico da maconha (MCPARTLAND, 2008). Outros compostos de origem vegetal como a datura, extraída da *Datura metel* L.; e alcaloides extraídos da *Areca catechu* L. também já foram identificados como adulterantes de maconha. Todos estes compostos regulam a atividade colinérgica, influenciando indiretamente no efeito do THC (MCPARTLAND, 2008).

Além destas, existem substâncias inertes identificadas na literatura utilizadas com fins de adulteração/diluição ou que, durante o processo de produção, contaminaram a droga acidentalmente. O alumínio, por exemplo, já foi identificado em amostras de maconha e tabaco e se supõe que sua presença se deu por água contaminada. Ainda existe a adição de substâncias extremamente perigosas como

pó de vidro, sílica e sprays fixadores industriais, foram utilizadas em larga escala no Reino Unido como adulterantes para aumentar o peso da droga ou para dar uma boa aparência à planta (EXLEY, 2006).

As apreensões policiais têm mostrado que a maconha apreendida possui contaminação por fungos, adição de fezes de animais herbívoros, de plantas (alucinógenas, estimulantes, aromáticas), melado e terra, exemplificados a seguir.

A presença de fungos está ligada a má secagem da canábis durante a produção de maconha. As fezes de animais são adicionadas pela aparência similar a da droga. As plantas alucinógenas adicionadas à maconha não são frequentes no Brasil, mas podem ser colocadas para mimetizar o efeito perturbador da droga, já as plantas aromáticas para mimetizar o odor característico. O melado é adicionado normalmente quando a erva está seca, pronta para ser prensada, em virtude da natureza oleosa da canábis – onde estão a maior contração de canabinoides -, o melado pode dar impressão de uma maconha mais encorpada e pesada, com maior concentração de canabinoides. A terra é oriunda do período de colheita pela não separação das raízes durante a secagem e pelas condições de produção não serem ideais.

Soma-se a isso, a presença de diferentes agrotóxicos, usados no cultivo de modo indiscriminado, ressalta-se que muitas vezes o cultivo de maconha é camuflado no meio de outras plantações para dificultar a visualização das plantas por parte da polícia e isso expõe a planta aos meus agrotóxicos utilizados em outras culturas (INCB, 2015).

De acordo com a Junta Internacional de Fiscalização de Entorpecentes, ligado a Organização das Nações Unidas contra Drogas e Crime (UNODC), cerca de 80% da maconha traficada no Brasil vem do Paraguai. O Paraguai é um país de 800 km de fronteira seca com o Brasil, tornando-o grande porta de entrada não apenas para maconha, mas também para entrada ilegal de outros produtos, ressaltando os agrotóxicos que possuem legislação mais flexível que no Brasil (INCB, 2015).

As consequências do uso de drogas “batizadas” com os mais diversos diluentes atingem diretamente o usuário que desconhece o produto que consome, estando a mercê de outros problemas de saúde. Relatos de casos mostraram diversos usuários que deram entrada em hospitais com quadros graves devido à presença de certos adulterantes. O levamisol, por exemplo, como foi descrito

outrora, desencadeia infecções recorrentes e oportunistas por ser um imunossupressor; o talco presente na maconha pode causar pneumoconiose; infecções bacterianas locais e sistêmicas devido à preparação destes adulterantes; o vidro e a sílica para adulterar a maconha são severamente danosos aos sistema respiratório; reações de hipersensibilidade aos adulterantes; e os medicamentos proibidos podem apresentar toxicidade renal, hepática ou mieloide (NHS, 2007; COLE, 2010; INCB, 2015).

A pesquisa de diluentes e adulterantes necessita de maior foco, pois por meio dela pode-se descobrir a origem de produção da droga e isso pode auxiliar a inteligência policial na linha de investigação. Ademais, a pesquisa acerca dos contaminantes fornece informações para o manejo de pacientes durante os crises de dependência, podendo auxiliar os profissionais de saúde na elaboração de formas mais eficazes de tratamento (MAGALHÃES, 2013).

3.6. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com Acessório de Refletância Total Atenuada (FTIR-ATR)

A espectroscopia estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria, sendo um dos principais objetivos o estudo de níveis de energia de átomos ou moléculas (PAVIA, 2010). A região do infravermelho foi descoberta por William Herschel em 1800, e somente no início do século XX que obteve espectros de absorção no infravermelho de grande número de compostos orgânicos no estado sólido, líquido e vapor. O infravermelho corresponde a parte do espectro eletromagnético que está entre as regiões do visível e das micro-ondas e corresponde uma faixa de frequência de 12800 a 10 cm^{-1} como observado no figura 7. A radiação infravermelha é não ionizante e encontra-se na porção não visível do espectro eletromagnético; no entanto, ainda que não possa ser vista, pode ser percebida na forma de calor (Figura 1) (PAVIA, 2010).

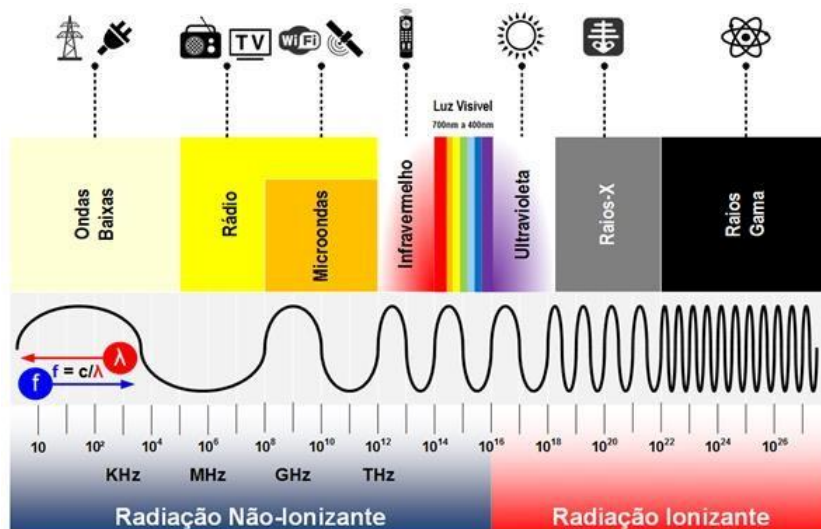


Figura 6 – Espectro Eletromagnético.

Fonte: Adaptado de PAVIA, 2010.

Tabela 2 – Regiões espectrais do Infravermelho.

Região	Intervalo de Comprimento de Onda, μm	Região de número de onda cm^{-1}	Região de Frequência, Hz
Próximo (Near) - NIR	0,78 a 2,5	12800 a 4000	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$
Médio (Medium) - MIR	2,5 a 50	4000 a 200	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$
Distante (Far) - FIR	50 a 1000	200 a 10	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$
Mais usada	2,5 a 15	4000 a 670	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$

Fonte: adaptado de PAVIA, 2010.

A espectroscopia de infravermelho médio compreende a uma faixa de frequência de 4000 a 200 cm^{-1} e é uma metodologia confiável para detecção de regiões de impressão digital de diferentes compostos. Muitas substâncias podem ser caracterizadas, identificadas e até mesmo, quantificadas. Um dos pontos fortes da técnica é a capacidade analítica de obter espectros a partir de amostras sólidas, líquidas ou gasosas. No entanto, algumas vezes pode ser necessário um preparo prévio e simples da amostra para se ter espectros de boa qualidade, ainda que o preparo seja mais simples que em outras técnicas (THERMO, 2013; PERKIN-ELMER, 2014). As outras vantagens são a pouca quantidade de amostra necessária para análise, o tempo rápido para análise (em torno de 1 minuto) e a não destruição

da amostra após a análise, ressalta-se que isso é de suma importância em ciência forense.

Tradicionalmente, os espectrômetros de infravermelho foram utilizados para analisar amostras nos três estados físicos por meio da incidência de radiação infravermelha diretamente na amostra através de um cristal que possui grande capacidade de difusão, mas baixa absorção dessa radiação (Figura 7) (PERKIN-ELMER, 2014).

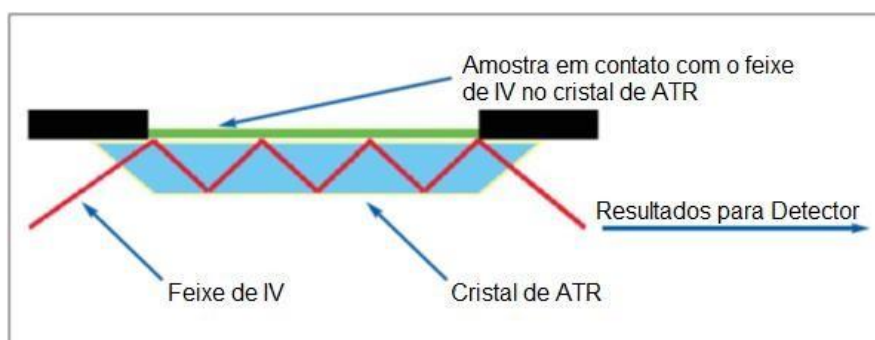


Figura 7 – a múltipla reflexão do sistema de ATR.

Fonte: adaptado de PERKIN- ELMER, 2014.

A metodologia de FTIR-ATR conta com recurso da Transformada de Fourier, uma operação matemática que por meio de um software, separa as frequências das absorções individuais contidas no interferograma, subtraindo o interferograma de fundo que se faz a partir de gases atmosféricos ativos no IR (dióxido de carbono e vapor d'água) do interferograma da amostra, produzindo um espectro idêntico ao obtido por um espectrômetro dispersivo. Como vantagem, tem-se a otimização do tempo de análise e a conservação da amostra analisada. Já, como desvantagem, vê-se que determinações quantitativas são possíveis apenas com correlação prévia entre valores de parâmetros de interesse para certo grupo de amostras e espectros. Os picos muitas vezes são amplos e sobrepostos, portanto, há necessidade de uso de técnicas multivariadas para interpretação dos resultados (PAVIA, 2010).

O acessório de Refletância Total Atenuada (ATR), nos últimos anos, revolucionou as análises com amostras sólidas e líquidas, pois combate dois desafios importantes da metodologia: a preparação da amostra e a reprodutibilidade das análises. (PERKIN-ELMER, 2014). O princípio do ATR baseia-se na medição das mudanças de incidência do feixe de infravermelho sobre a amostra. A amostra sólida ou líquida é posicionada em cima de um cristal opticamente denso e com alto

índice de refração, no caso da amostra sólida é necessário pressioná-la de tal modo a proporcionar o máximo contato. A radiação produzida é direcionada, a um ângulo específico pelo equipamento e que passa através do cristal de ATR em direção a amostra e é totalmente refletida em sua superfície interna. Desta forma, o feixe de luz penetrará numa camada fina de material da superfície da amostra absorvente ($0,5 \mu - 5 \mu$) e sofrerá perda de energia naqueles comprimentos de onda em que o material absorve. A intensidade da radiação é atenuada devido às múltiplas reflexões ao longo do comprimento da amostra, ou seja, ocorre a refletância total atenuada e um espectro de superfície é produzido (THERMO, 2013).

Os espectros de ATR são obtidos na mesma faixa de trabalho dos métodos convencionais na região do infravermelho médio, faixa utilizada com objetivo de identificação de compostos químicos. Podem ser apresentados em duas formas: absorbância versus número de onda (cm^{-1}) ou em porcentagem de transmitância versus número de onda (cm^{-1}), a escolha da forma de apresentação depende da finalidade a que se destina (PAVIA, 2010).

As vibrações moleculares que ocorrem durante a passagem do feixe de infravermelho podem ser classificadas como estiramentos ou dobramentos angulares e só vão ocorrer em moléculas que contenham momento dipolo diferente de zero. Um estiramento envolve a variação contínua na distância interatômica ao longo do eixo de ligação entre dois átomos e pode ser simétrico ou assimétrico. Já as vibrações de dobramentos angulares são caracterizadas pela variação de ângulo entre duas ligações, podendo ser simétricas como as deformações no plano (rocking) e fora do plano (wagging) e assimétricas que são torções no plano (twisting) ou fora do plano (scissoring) (Figura 8) (PAVIA, 2010).

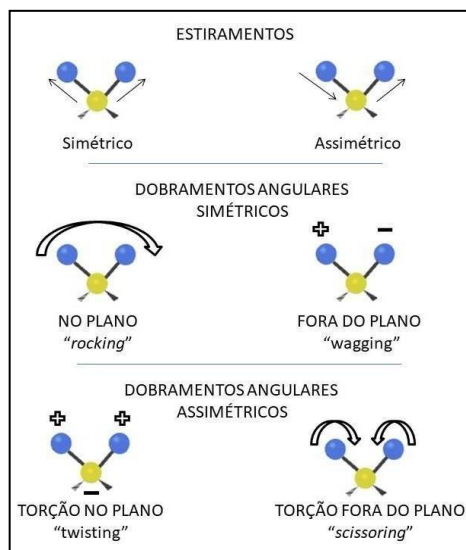


Figura 8 – Classificação de vibrações moleculares. O sinal positivo indica movimento na direção do leito e negativo na direção do plano.
 Fonte: Adaptado de PAVIA, 2010.

3.7 Análise Multivariada de Dados (AMD)

A análise multivariada de dados, também chamada de quimiometria, refere-se ao uso de ferramentas computacionais matemáticas e estatísticas para maximizar informações extraídas de um conjunto de dados (FERREIRA, 2015). Na década de 90, a quimiometria foi organizada como disciplina e começou a se expandir especialmente para a indústria farmacêutica; desde então, com a utilização de instrumentos analíticos que produzem grande volume de resultados, a análise multivariada tornou-se ferramenta indispensável para análise de dados (BRERETON, 2007).

Uma das principais vertentes do uso da análise estatística multivariada em química analítica é o reconhecimento de padrões em amostras, viabilizando assim a obtenção de mais informações do conjunto do que quando comparado com os procedimentos univariados adotados, possibilitando, por exemplo, identificar a origem das amostras estudadas (FERREIRA, 2015).

Os métodos quimiométricos utilizados para identificar as semelhanças e as diferenças dentro do grupo de amostras analisadas, além de classifica-las e agrupá-las, estão divididos entre “métodos não supervisionados” e “métodos supervisionados”. Em comum, ambos os métodos se baseiam na validade das seguintes suposições: as amostras do mesmo tipo são semelhantes; existem

diferenças significativas entre diferentes tipos de amostras e, o conjunto de medidas disponíveis é capaz de detectar as semelhanças e diferenças. Contudo, nos métodos supervisionados, cada amostra analisada provém de uma classe preestabelecida, enquanto que nos métodos não supervisionados não há nenhum conhecimento prévio a respeito da classificação das amostras (ANZANELLO, 2015; FERREIRA, 2015).

Para as análises quimiométricas serem executadas, os dados químicos precisam ser colocados numa matriz em que cada amostra é colocada nas linhas e suas variáveis dispostas em colunas. Como a quantidade de variáveis pode ser grande, suas grandezas de medida podem ser diferentes e podem haver diferentes interferentes, é importante realizar um pré-processamento dos dados originais para nivelar os resultados. Os métodos de pré-processamento mais utilizados consistem basicamente em centrar na média ou auto-escalar os dados. No primeiro caso, calcula-se a média dos valores experimentais para cada variável e subtrai-se cada valor experimental do respectivo valor médio. Auto-escalar significa centrar os dados na média e dividi-los pelo respectivo desvio-padrão, sendo um para cada variável (ANZANELLO, 2015; FERREIRA, 2015).

Neste trabalho, em virtude da quantidade de amostral ser pequena e de não se ter conhecimento prévio das amostras foram aplicados apenas análise por métodos não supervisionados, exemplificados a seguir.

3.7.1. Métodos Não supervisionados (Análise Exploratória de Dados)

Os métodos não supervisionados não utilizam informações a respeito das classes a serem formadas nos cálculos, ou seja, não há preocupação de construir uma regra preditiva. São métodos mais simples e ao mesmo tempo mais eficazes para o reconhecimento de padrões e classificação de amostras a partir da análise visual dos resultados experimentais (FERREIRA, 2015).

A análise por agrupamento hierárquico (HCA) e a análise de componentes principais (PCA) são dois exemplos de métodos matemáticos não supervisionados mais utilizados e que permitem a visualização gráfica de todo o conjunto de dados, mesmo quando o número de amostras e variáveis é elevado (FERREIRA, 2015).

3.7.1.1. Análise por agrupamentos hierárquicos (HCA)

A HCA trata-se de um método adequado para descobrir “padrões naturais” de comportamento em um conjunto de amostras, agrupando-as em classes com base na similaridade dos grupos de uma mesma classe e nas diferenças entre os membros de classes diferentes. A finalidade é maximizar a homogeneidade interna, dentro os grupos, e maximizar a heterogeneidade entre eles (FERREIRA, 2015). Uma maneira de determinar o quanto um objeto é semelhante ao outro é através do cálculo da distância entre eles, sendo a distância Euclidiana um exemplo de medida de distância utilizado. A representação gráfica obtida a partir da HCA é chamada de dendrograma, um gráfico bidimensional na forma de uma árvore hierárquica, em que os ramos da árvore representam o grau de similaridade entre as amostras (FERREIRA, 2015).

3.7.1.2 Análise por componentes principais (PCA)

A PCA consiste em projetar os dados multivariados em um espaço de dimensão menor, reduzindo assim a dimensionalidade do espaço original do conjunto de dados sem que as relações entre as amostras sejam afetadas. Com essa metodologia não só é possível descobrir, visualizar e interpretar as diferenças existentes entre as variáveis e avaliar as relações que podem existir entre as amostras, mas também, detectar amostras que apresentem um comportamento distinto, uma vez que com a projeção dos dados elas tendem a se tornar evidentes (FERREIRA, 2015). Assim, na PCA ocorre a transformação da matriz de dados, com o objetivo de representar as variações presentes em muitas variáveis, através de um número menor de “fatores”, também denominados de componentes principais (FERREIRA, 2015). Portanto, constrói-se um novo sistema de eixos que são denominados rotineiramente de fatores, componentes principais, variáveis latentes ou ainda autovetores, para representar as amostras, no qual a natureza multivariada dos dados pode ser visualizada em poucas dimensões (ANZANELLO, 2015).

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

Estas novas variáveis são obtidas em ordem decrescente de quantidade de informação estatística que descrevem, ou seja, a primeira componente principal aponta a direção de maior variação dos dados, a segunda, que é ortogonal à primeira, aponta outra direção que descreve a maior variação restante dos dados e assim por diante (FERREIRA, 2015).

4 CAPÍTULO I - Artigo: Application of chemometrics by FTIR-ATR in marijuana samples seized by the Federal Police and influence of their possible diluents

4.1 Artigo

O Capítulo I é constituído por artigo científico submetido no periódico *Forensic Chemistry* vinculado ao grupo Elsevier. O artigo descreve a aplicação de PCA e HCA em amostras de apreensão de canábis e maconha com a influência de seus possíveis diluentes analisados pela metodologia de FTIR-ATR.

Application of chemometrics by FTIR-ATR in marijuana samples seized by Federal Police and influence of their possible diluents

Marina González^a, Bruna Tassi Borille^a, Maíra Kerpel dos Santos^a, Mariana Fernandes Ramos^b, Natália Mai de Rose^c, Mauro Sander Fett^d, Rafael Scorsatto Ortiz^e; Flávio Anastácio de Oliveira Camargo^b; Marco Flôres Ferrão^e; Renata Pereira Limberger^a.

a - Laboratory of Analysis and Research in Toxicology, Federal University of Rio Grande do Sul, Department of Pharmacy, Porto Alegre, RS, Brazil

b – Soil Science Graduate Program, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

c - Acre Technical and Scientific Division, Federal Police, Rio Branco, AC;

d - Rio Grande do Sul Technical and Scientific Division, Brazilian Federal Police, Porto Alegre, RS, Brazil.

e - Chemistry Institute, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

*Corresponding author at: Marina González. Department of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul, 2752 Ipiranga Avenue, Santana, Porto Alegre, 90610000, Rio Grande do Sul, Brazil.

E-mail address: nina.gonzalez@gmail.com (M.González)

ABSTRACT

Marijuana is the most popular form of presentation of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae) popularly known as *Cannabis*, and it is composed of aerial parts of the plant, such as leaves and inflorescences, dried and pressed prepared as a smoking mixture. It is the most consumed and trafficked drug in the world, presenting an increase of users, every year. *Cannabis* can be grown indoor and outdoor and their differences may be important with regard to potency of the drug. In addition, marijuana can be mixed with diluents and/or adulterants that may contribute to addiction cases and lead to toxicity, causing serious health risk to its consumers. Chemical profile studies of drug samples are tools that could assist, providing evidence to prove the materiality of crime of the trafficking. So, the aim of this study was to perform the analysis of *Cannabis* and marijuana seizure samples by FTIR-ATR (range 1800-880 cm^{-1}) combined with unsupervised chemometric tools to differentiate the way of cultivation of the plant and to suggest use of diluents. PCA and HCA showed relevant separation trends between seizure samples and their possible diluents, grouping the samples by chemical similarity. The results obtained by FTIR-ATR combined with chemometric tools area capable of generating fast and sensitive data, providing relevant information for chemical profile research.

Keywords: *Cannabis sativa*; marijuana; chemical profiling; FTIR-ATR; chemometrics

1. INTRODUCTION

Marijuana is composed of aerial parts of the plant *Cannabis sativa* L., such as leaves and inflorescences, dried and pressed prepared as a smoking mixture for cigarettes, pipes and hookah [1]. *Cannabis* accounts for 183 million of active users in 2015, ranking first in the types of drugs in use [1]. Only in 2014, the Brazilian Federal Police (BFP) seized more than 200 tons of marijuana in Brazilian territory [2]. *Cannabis* is opposite in relation to other drugs, because although the number of seizures remained stable, the number of users and dependent consumers increases each year [3]. Even with the Ordinance number 344/1998 and the Law number 11.343/2006, which respectively determine that any presentation of cannabis is

proscribed in the country and provide preventive measures, attention and social reintegration to users, define crimes and establishes standards of repression to the illegal trade; there is no effective prohibition of trafficking and drop in its use in the country [4,5]. Furthermore, *Cannabis* is a chemically complex plant with a diversity of compounds including flavonoids, mono and sesquiterpenoids, steroids, nitrogenous compounds and cannabinoids, a special class of terpenophenols characteristic of the plant [6,7]. Over the years, *cannabis* has undergone genetic and cultivation techniques, allowing the increase in content of its psychotropic cannabinoid, Δ -9-Tetrahydrocannabinol (THC), along with its modulator cannabidiol (CBD), and the addition of diluents and/or adulterants, frequently found in marijuana, and that may contribute to dependence [6]. Diluents are added to drugs in order to increase the yield of the mixture, otherwise the adulterants are added in order to mimic the effects of the drug [8]. Sometimes it is possible to use diluents that also act as adulterant, which is the case of Tobacco, used to increase the volume and dependence due to the presence of nicotine [9]. Thus, the trafficking industry became professionalized, requiring updated methodologies, capable of identifying and tracing its origin by police force and forensic science [10].

Chemical profile studies are tools that could assist allowing capable data of tracking and grouping samples of seizures, providing evidence to prove the materiality of crime of the trafficking [11,12]. FTIR-ATR is an attractive technique for this kind of research because it is not destructive for the samples, it requires little preparation and it is inexpensive compared to other available methodologies, being able to adapt the reality of different police forces across the country. Combined with multivariate data analysis, it becomes a powerful tool in forensic science that is already consolidated in other segments such as: analysis of cocaine and their adulterants, falsification of medicines and in documents adulteration [13]. Using the principal components analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) of cannabis and marijuana samples, which groups and/or isolates samples by criteria of chemical and sectoral similarity [14], it is possible to differentiate the way of cultivation of the plant and to suggest use of diluents to increase drug yield.

Thus, this study combines methodologies of instrumental analysis of Fourier Transform Infrared spectroscopy with Attenuated Total Reflectance sampling accessory, (FTIR-ATR), with multivariate tools to perform the analysis of marijuana

and *cannabis* samples seized by Federal Police and their possible diluents as a form of precursor design for chemical profile analysis, aiming to provide more concrete evidence for drug trafficking.

2. METHODS

2.1. Seized Samples and Diluents

In Brazil, the only way to conduct a study about *Cannabis* and marijuana is by using seized samples. The samples were provided by the BFP. All the research was assisted by a federal criminal expert. Samples were separated into groups according to the place of seizure and/or geographic location. Twenty-nine cannabis samples were provided from previous research on seed trafficking [11, 12, 15]. The seeds were grown in indoor way at the Federal Police Department (DPF) in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil (30° 2' 53.30" S 51°12' 54.26" W), with authorization from justice [11, 15]. Ten samples were seized in Manaus, Amazonas, Brazil (3° 7'8.50"S 60° 1'18.23" W) and were sent to DPF in Rio Branco, Acre, Brazil. Nine samples of *cannabis* were obtained from seizures in the border region known as the São Francisco River Valley, on the border of the states of Bahia and Pernambuco (geographical coverage: 8° 35' 20.82" S 39° 29' 30.66" W; 8° 3 33' 28.02" S 39° 25' 53.58" W; 8° 30' 21.00" S 39° 39' 12.78" W). And three street samples of marijuana seized in different places of Porto Alegre without exact location (Table 1).

Table 1

The diluent samples were selected according to the local reported by the Federal Police. Four samples of fresh horse feces were selected from the Veterinary Hospital of the Jockey Club of Porto Alegre; four samples of commercial tobacco from popular cigarettes (Kent®, Minister®, L & M® and Marlboro®), three basil samples (*Ocimum basilicum* L.), one fresh and two dried; three samples of oregano (*Origanum vulgare* L.), one fresh and two dried; three samples of cilantro (*Coriandrum sativum* L.), one fresh and two dried and a sample of black soil enriched with dolomitic limestone (Table 2).

Table 2

2.2. Sample Preparation

All the *Cannabis*, marijuana and diluents samples were prepared using the same protocol. The samples were dried with heat at 60 °C for one hour in an oven (Biomatic®), crushed with a hand crusher, followed by homogenization with a mortar and pestle. Next, they were sifted using a tamper and packed in a 1.5 ml eppendorf tube. Diluents samples were mixed according to the classes described in table 2, with no distinction of their origin.

2.3. Instrumentation

The infrared spectra of all seized samples and thinners were obtained in a Thermo Fisher Nicolet Avatar 370 DTGS spectrometer (Thermo Fischer, San Diego, CA, USA) using a universal attenuated total reflectance (ATR) sampling accessory. Absorbance was measured in the spectral range of 400-4000 cm^{-1} . The grinded samples were directly analyzed. The spectra were acquired in random order, in triplicate, with 32 scans and resolution of 4 cm^{-1} .

2.4. Chemometrics

ChemoStat® software was used for multivariate analysis. All *Cannabis*, marijuana and diluent samples were analyzed in triplicate with background performed on each sample. The triplicate of each sample was averaged and the range of analyses was 1800 – 880 cm^{-1} because it is a relevant region with less noise interference. In ChemoStat®, the data were preprocessed using the Savitzky-Golay (SVG) algorithm (1st order polynomial, 13 points per window) and normalization. The standard normal variate (SNV) was applied to the spectra for removing vertical shifts, before multivariate analysis, and the spectra were mean-centered. The PCA and HCA analysis was performed in the pre-processed spectra to investigate the similarities between the samples.

2.5. Analysis Script

Multivariate analysis were separated into stages, To know the differences between the samples of seizure,: (a) comparison between *Cannabis* and marijuana; (b) differentiation between indoor and outdoor *Cannabis*; (c) diluents analysis; (d) comparison between samples of indoor *Cannabis* mixed with diluents and only diluents and (e) comparison of all seizure samples, mixed samples and diluents. The results are exemplified in figure 1.

Figure 1

3. RESULTS AND DISCUSSION

Infrared spectroscopy (IR) is a reliable methodology for detecting fingerprint regions of different compounds and can be widely used to analyze any sample that has organic functional groups (C H, N H, S H and OH) [14]. The FTIR-ATR methodology relies on the Fourier Transform, a mathematical operation that, through software, separates the frequencies of the individual absorptions contained in the interferogram, subtracting the background interferogram that is made from atmospheric gases active in IR (carbon dioxide and water vapor) of the interferogram of the sample, producing a spectrum identical to that obtained by a dispersive spectrometer. FTIR-ATR allows quick and cheap analysis, without sample destruction.

FTIR-ATR analysis without previous treatment of the samples and without the average of the triplicates of each sample revealed four possible regions of interest and varied absorbance samples (Fig. 2-a). To minimize the analysis noise that can be caused by differences in deposition and pressure of the sample in the ATR crystal and environmental differences, were used the preprocessing techniques, Savitzky Golay (SVG) algorithm and normalization. The average was performed because the sample set was relatively extensive and made difficult to see in the spectrum. However, in solid analyzes, the use of triplicates is recommended, since each sample may have a different behavior depending on the conditions cited. These

factors may change the response to multivariate analyzes. With pretreatment, there is the possibility of uniform the spectral signals (Fig. 2–b). Thus, it is possible to confirm that there are four regions of important vibrations: at 1600 cm^{-1} ; 1400 cm^{-1} ; 1200 cm^{-1} and 1000 cm^{-1} which are responsible for the characterization of the samples, related to: C=C type stretch vibrations; stretching and deformation =C-H, -C-H; stretch vibrations =C-O-C, C-O-H and strain vibrations =C-H. The fingerprint region comprising from 800 cm^{-1} to 1400 cm^{-1} is also associated with the region of aromatic compounds.

Figure 2

A dendrogram is a diagram that shows the clusters formed by grouping observations at their levels of similarity, using Euclidean distance. In Fig. 3, it is possible to observe the dendrogram in which there is almost total separation of the *Cannabis* samples grown in the BFP in two clusters and the formation of one cluster referring to the marijuana samples from Acre. These groups answer the questions (a) and (b) of the analysis script, being it possible to differentiate *Cannabis* from marijuana samples and to establish differences between indoor and outdoor *Cannabis* samples.

Figure 3

Analyzing the PCA (Fig. 4), it is possible to see that the first main component (PC1), with 70.51% of variance, is responsible for separating the indoor culture samples from the BFP. On the other hand, the inspection of PC2 shows the tendency of separation between the samples of outdoor cultivation of Bahia with the samples of marijuana from Acre. In addition, there is almost the definitive separation, in the second quadrant of the graph, of the street samples, suggesting a similarity between two of the three samples seized.

Figure 4

When comparing PC1 (70.51%) with PC3 (8.14%) (Fig. 5), the difference between *Cannabis* and marijuana samples is more evident. The indoor samples are concentrated in quadrants three and four of the graph. While the samples from Acre are 90% distributed in the first quadrant and the samples from Bahia are in the fourth quadrant.

Figure 5

The diluent analysis was a resource for trying to differentiate marijuana samples that did not clearly separate. Initially, the diluents were analyzed alone, in triplicate of analysis of the pool of each diluent and the preprocessing already described was performed. By the spectrum it is observed that the samples had different constitutions (Fig. 6-a) and it is possible to make their clear differentiation, thus answering the question (c) of script analysis. Differences between diluents constituted of a vegetal material, by the separation of the samples of aromatic plants and commercial tobacco, of the samples of soil and feces whose constitution is different from the others were observed. The PCA scores chart (Fig. 6-c) confirms the finding of the HCA (Fig. 6-b), placing each group of diluents in a quadrant of the graph; and PC1 is responsible for 95.77 % of the variance.

Figure 6

Three indoor *Cannabis* samples were randomly chosen and mixed with each group of diluents in a 1:1 ratio, separately, and analyzed in triplicate. The results were treated and compared with the diluent samples (Fig. 7 a, b, c). The different classes of diluents separate the cannabis samples according to the chemical similarity of the diluents (Fig. 7-c). The mixture of samples with commercial tobacco and aromatic plants shows that it is possible to have deliberate or accidental contamination with diluents in the seized samples, responding in a relevant way the question (d) of the script analysis.

Figure 7

In order to analyze all samples (seized, mixtures and diluents) it was necessary to average the triplicate of each sample before the pretreatment due to the quantity of samples and their similarity, the results overlapped, with no clear identification of groups.(Fig. 8-a).

Figure 8

Considering all sample set, some trends are revealed, such as: PC1 showed 89.68% of variance and clearly separates the soil and *Cannabis* samples mixed with soil from the other samples, evidenced in the loadings graph (Fig. 8-b, 8-c), in with samples in the negative portion of PC1, correspond to the wave number around 900 cm^{-1} in the spectra. Indoor *Cannabis* samples form a well-defined group on the positive portion of PC1 and in the negative portion of PC2. Marijuana samples from Acre also have a characteristic profile, forming a group on the positive portion of PC1 and also, with the proximity of *Cannabis* samples labeled with tobacco from these samples, it is possible to suggest its contamination *Cannabis* samples from Bahia are different from those grown at BPF, confirming the difference between indoor and outdoor forms of cultivation. The unknown samples, due to the high distances, are samples from different types of marijuana. The feces samples did not form a separate group, but are almost equidistant in the negative portion of PC2, relatively separate from the other samples. Thus, the chemometric findings were able to compare the sample set, answering the question (e) of the analysis script.

4. CONCLUSIONS

A *Cannabis* plants and marijuana separation methodology with additional analysis of possible diluents present in the seizure samples was proposed by performing FTIR-ATR analysis and multivariate data analysis. The non-supervised methods of PCA and HCA showed that it is possible to separate the *Cannabis* and marijuana samples and to differentiate indoor culture from the samples. Analysis of the diluents revealed that contamination of the seized marijuana samples it is possible. FTIR-ATR methodology is fast, easy to apply, requires little sample volume and, mainly, preserves the sample from destruction, an important detail for the

forensic sciences. The multivariate analysis of data obtained through infrared analysis were reliable and satisfactory, considering the results of chemical profile of drugs of abuse, since it gathers several relevant information in a short period of research.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank to CNPq and CAPES for the financial support and to Brazilian Federal Police for the scientific partnership.

REFERENCES

- [1] UNODC. United Nations Office on Drugs and Crime., Report world 1, 2017.
- [2] FEDERAL POLICE. GPRE bulletins, Suppression GB-GCotPN, DPF Newsletter, 2013 <http://www.dpf.gov.br/agencia/noticias/2014/01/pf-bate-recorde-de-apreensao-de-drogas-em-2013>.
- [3] UNODC. United Nations Office on Drugs and Crime, 2015.
- [4] BRASIL, Portaria n. 344, de 12 de maio de 1998, Ministério Da Saúde. (1998).
- [5] BRASIL. Lei nº 11.343, de 23 de agosto de 2006.
- [6] M.A. Elsohly, D. Slade, Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids, 78 (2007) 539–548. doi:10.1016/j.lfs.2005.09.011.
- [7] M.M. Radwan, M.A. Elsohly, A.T. El-alfy, S.A. Ahmed, D. Slade, A.S. Husni, S.P. Manly, L. Wilson, S. Seale, S.J. Cutler, S.A. Ross, Isolation and Pharmacological Evaluation of Minor Cannabinoids from High-Potency Cannabis sativa, (2015) 1–6. doi:10.1021/acs.jnatprod.5b00065.
- [8] R.J. Dinis-Oliveira, F. Carvalho, J.A. Duarte, F. Remião, A. Marques, A. Santos, T. Magalhães, Collection of biological samples in forensic toxicology, Toxicol. Mech. Methods. 20 (2015) 363–414. doi:10.3109/15376516.2010.497976.
- [9] F.M. Filbey, T. Mcqueeny, S. Kadamangudi, C. Bice, A. Ketcherside, Combined effects of marijuana and nicotine on memory performance and hippocampal volume, Behav. Brain Res. 293 (2015) 46–53. doi:10.1016/j.bbr.2015.07.029.

- [10] R.S. Ortiz, K. de C. Mariotti, M.H. Holzschuh, W. Romão, R.P. Limberger, P. Mayorga, Profiling counterfeit Cialis, Viagra and analogs by UPLC-MS, *Forensic Sci. Int.* 229 (2013) 13–20. doi:10.1016/j.forsciint.2013.03.024.
- [11] B. Tassi, M. González, L. Steffens, R. Scorsatto, R. Pereira, Cannabis sativa : A systematic review of plant analysis, (2017) 1–23.
- [12] B. Tassi, M. Caetano, A. Marcelo, R. Scorsatto, K. De Cássia, M. Flôres, R. Pereira, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* Near infrared spectroscopy combined with chemometrics for growth stage classification of cannabis cultivated in a greenhouse from seized seeds, *SAA*. 173 (2017) 318–323. doi:10.1016/j.saa.2016.09.040.
- [13] R.S. Ortiz, K. de C. Mariotti, B. Fank, R.P. Limberger, M.J. Anzanello, P. Mayorga, Counterfeit Cialis and Viagra fingerprinting by ATR-FTIR spectroscopy with chemometry: Can the same pharmaceutical powder mixture be used to falsify two medicines?, *Forensic Sci. Int.* 226 (2013) 282–289. doi:10.1016/j.forsciint.2013.01.043.
- [14] M.J. Anzanello, F.S. Fogliatto, R.S. Ortiz, R. Limberger, K. Mariotti, Selecting relevant Fourier transform infrared spectroscopy wavenumbers for clustering authentic and counterfeit drug samples, *Sci. Justice.* 54 (2014) 363–368. doi:10.1016/j.scijus.2014.04.005.
- [15] K. De Cássia, M. Caetano, A. Marcelo, R.S. Ortiz, B. Tassi, M. Sander, M. Flôres, R. Pereira, Science and Justice Seized cannabis seeds cultivated in greenhouse : A chemical study by gas chromatography – mass spectrometry and chemometric analysis, *Sci. Justice.* 56 (2016) 35–41. doi:10.1016/j.scijus.2015.09.002.

Table 1 - Description of the seizure samples. * Multivariate analysis. AC = state of Acre; RS = state of Rio Grande Sul; BA = state of Bahia. SS = Street Samples. BFP = Brazilian Federal Police

Seized Sample	Location	Number of Samples	Number for MA*	Add Information
Marijuana	AC	10	1	-
<i>Cannabis plants</i>	RS	29	2	Indoor cultivation in BFP
<i>Cannabis plants</i>	BA	9	3	Outdoor cultivation
Marijuana	RS	3	4	SS

Table 2 - Description of the diluents samples. * Multivariate analysis.

Diluents Samples	Number of Samples	Name for MA*	Add Information
Aromatic Plants	9	AP	Pool of basil, oregano and cilantro
Horse Feces	4	FZ	-
Soil	1	S	-
Commercial Tobacco	4	FM	Pool of Kent®, Minister®, L&M® and Marlboro®

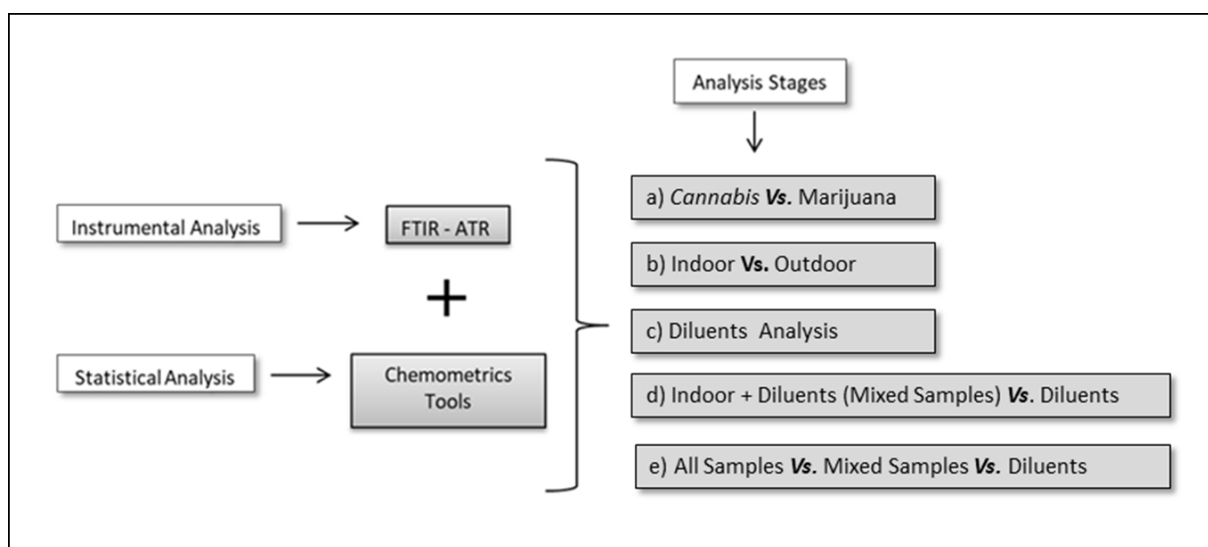


Figure 1: Sample analysis preparation scheme according to the type of origin with instrumental and statistical analysis.

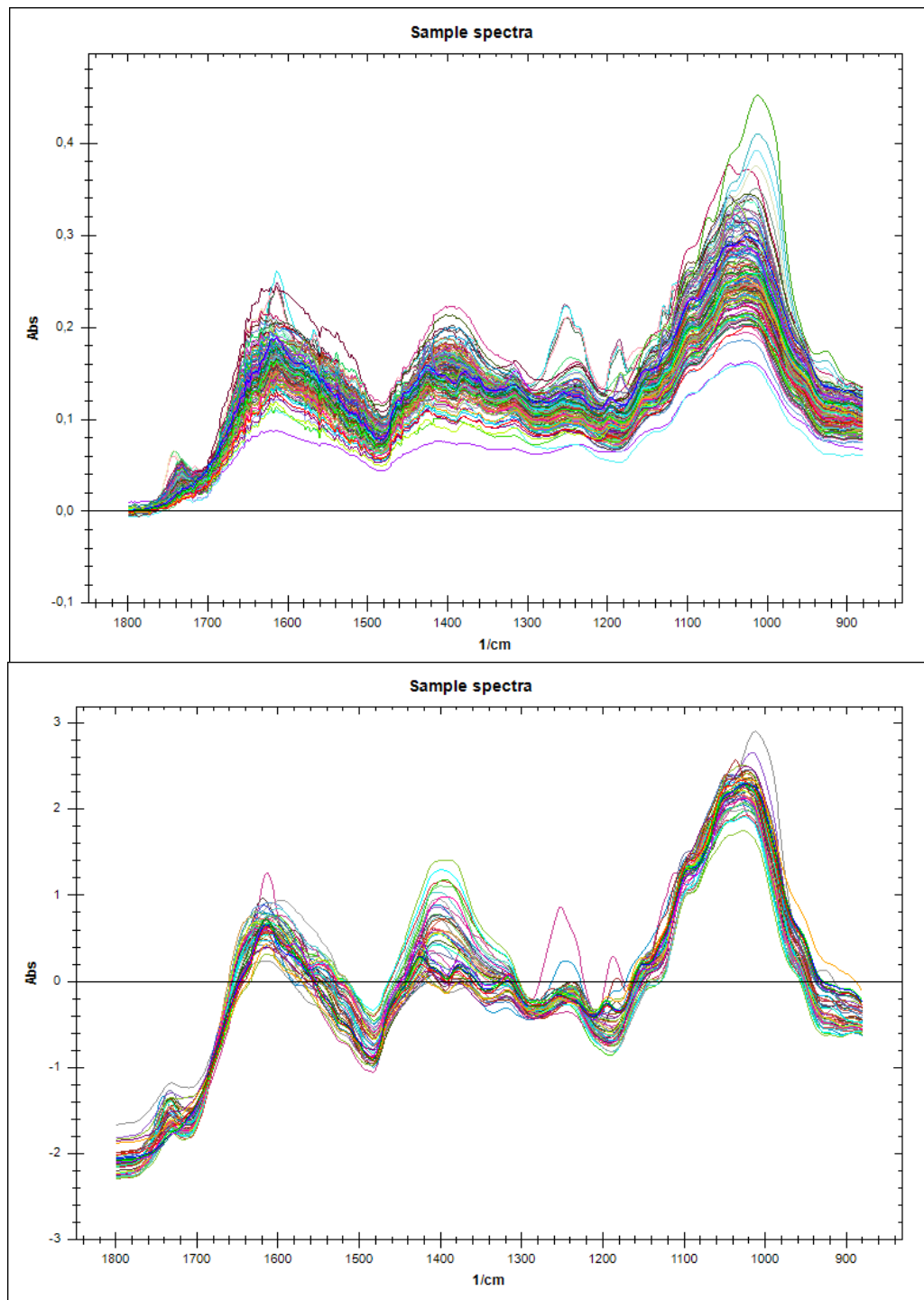


Figure 2: (a) FTIR-ATR spectra of *Cannabis* plants and marijuana samples in triplicate without preprocessing. (b) FTIR-ATR spectra of same samples with average and preprocessing.

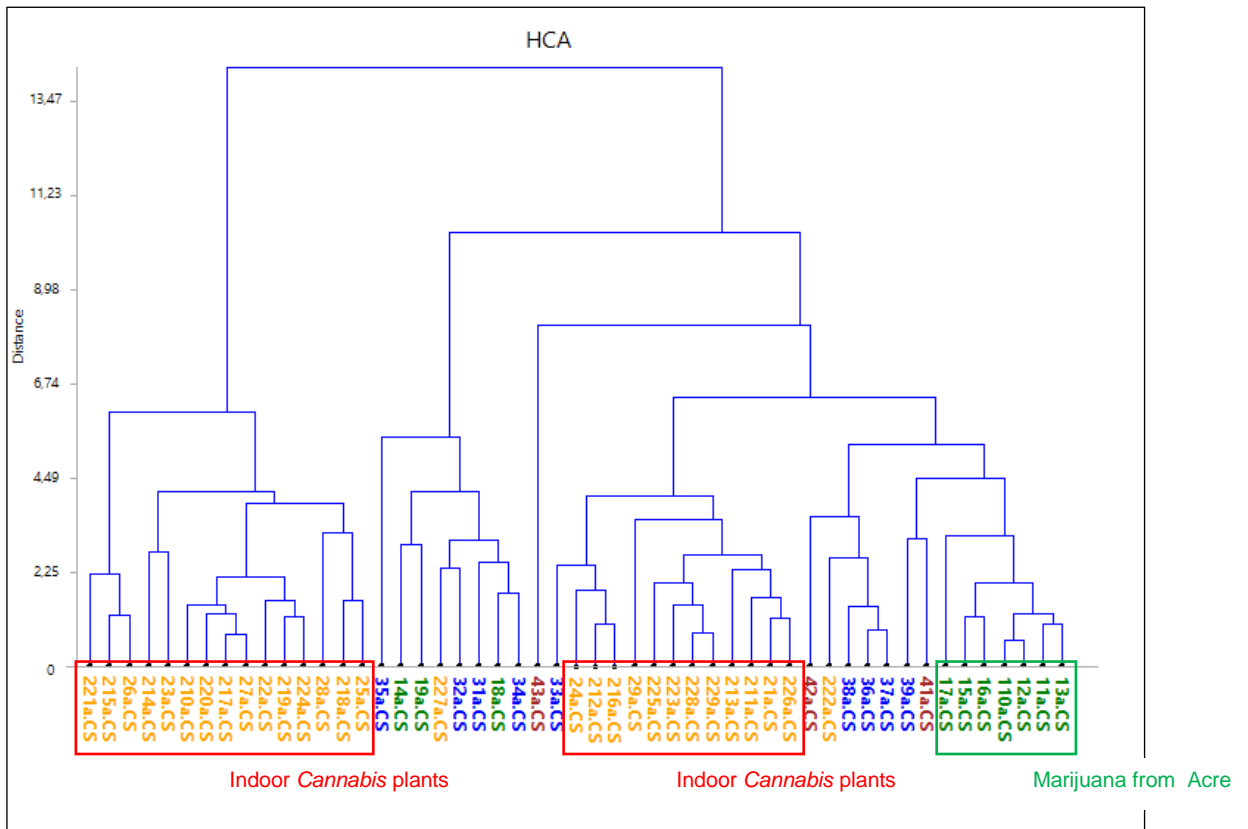


Figure 3: Dendrogram of *cannabis* and marijuana samples. Highlighted in red are the clusters of the indoor *Cannabis* plants samples and highlighted in green the cluster of the marijuana samples from Acre state. All Samples starting with number 1 are marijuana from Acre; 2: Indoor *Cannabis* plants; 3: Outdoor *Cannabis* plants from Bahia and 4: street samples from Rio Grande do Sul.

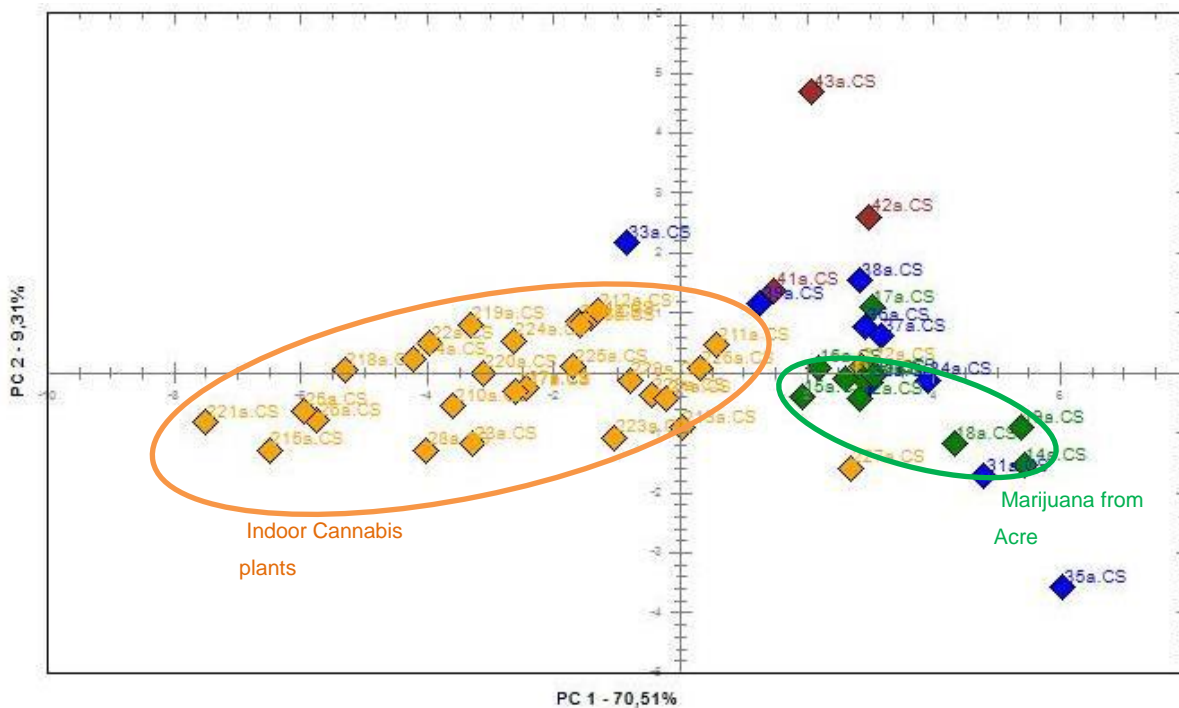


Figure 4: Scores of PCA (PC1xPC2) for *Cannabis* and marijuana FTIR-ATR spectra of four groups of seized samples. All Samples starting with number 1 are marijuana from Acre; 2: Indoor *Cannabis* plants; 3: Outdoor *Cannabis* plants from Bahia and 4: street samples from Rio Grande do Sul.

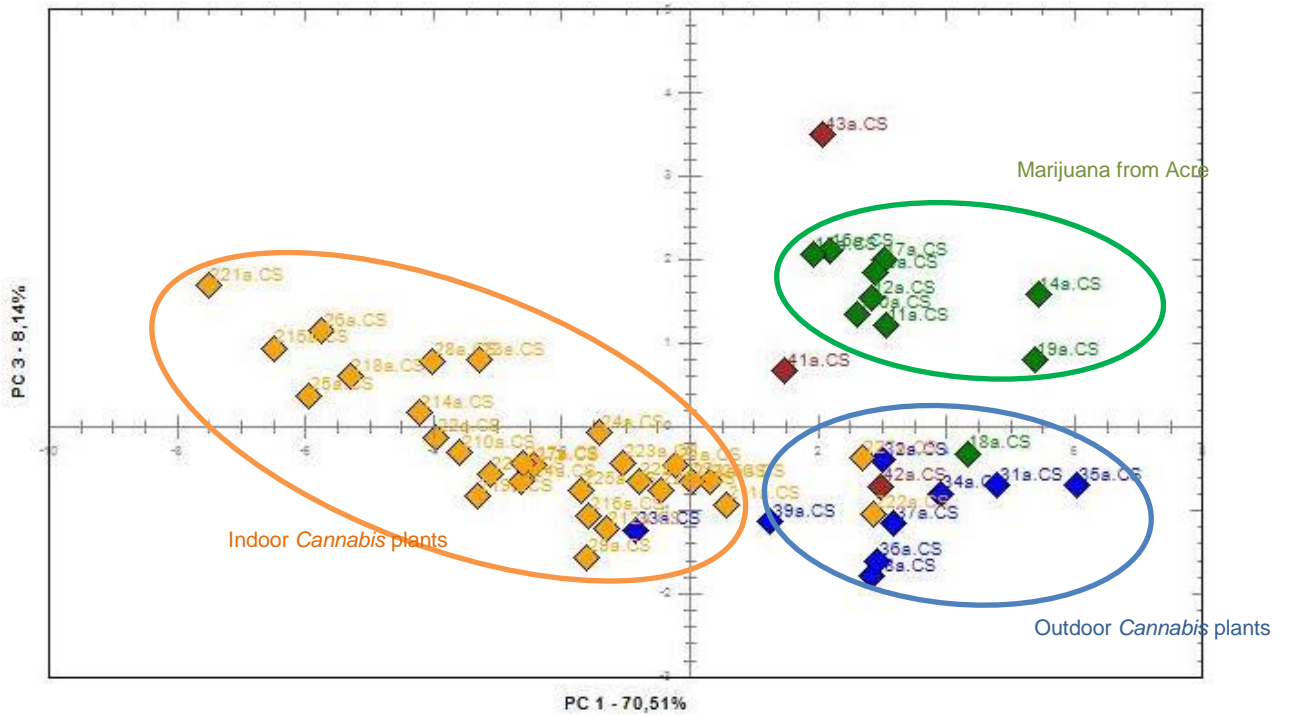


Figure 5: Scores of PCA (PC1xPC3) for the cannabis and marijuana FTIR-ATR spectra highlighting the three main groups of samples. All Samples starting with number 1 are marijuana from Acre; 2: Indoor Cannabis plants; 3: Outdoor Cannabis plants from Bahia and 4: street samples from Rio Grande do Sul.

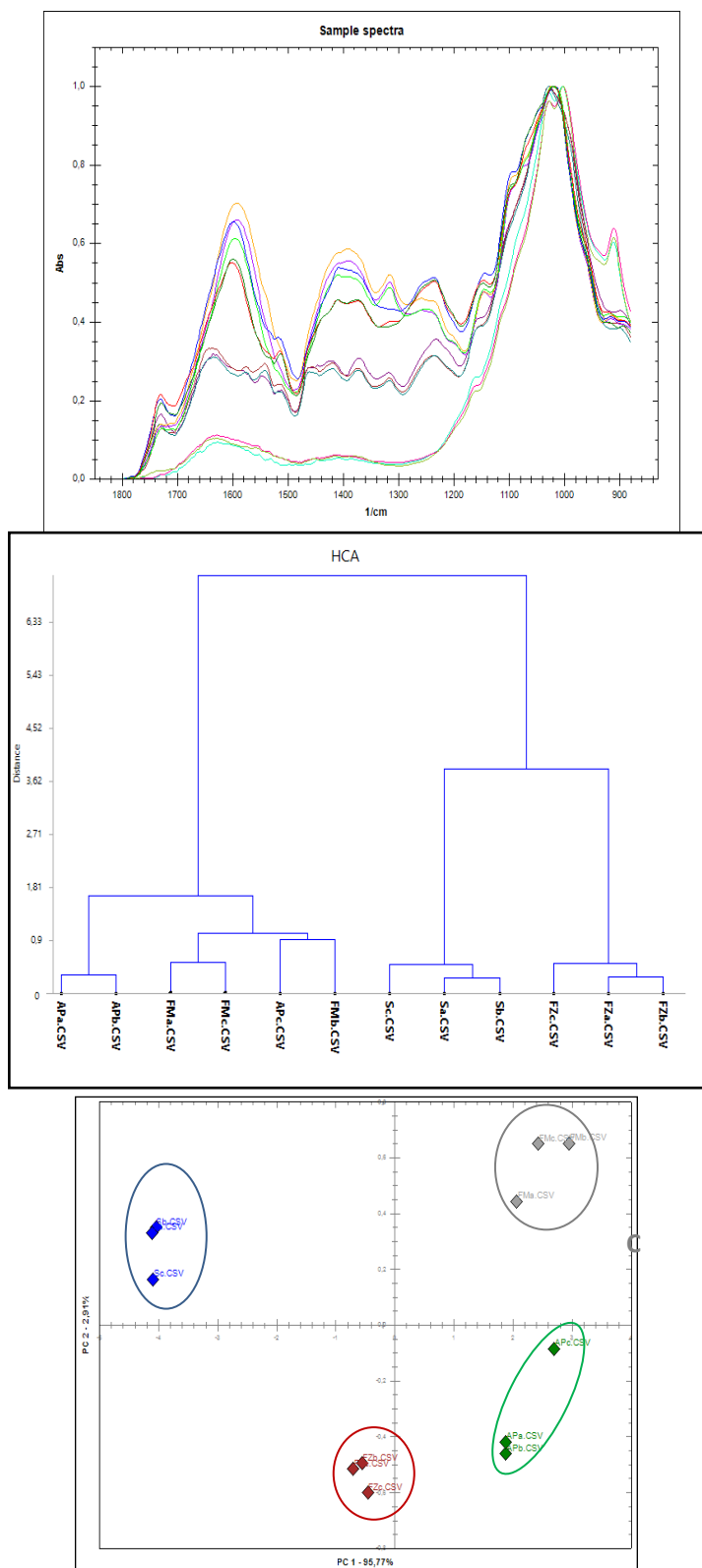


Figure 6: (a) FTIR-ATR spectra of diluents samples in triplicate with preprocessing. (b) Dendrogram of diluents samples, highlighting the differences between plant material from soil and feces. (c) PCA scores show diluents samples in opposite quadrants. Legend: AP – Aromatic Plants; FM – Commercial Tobacco; FZ – Feces; S – Soil. The letters “ab, “b” and “c” identify the triplicate

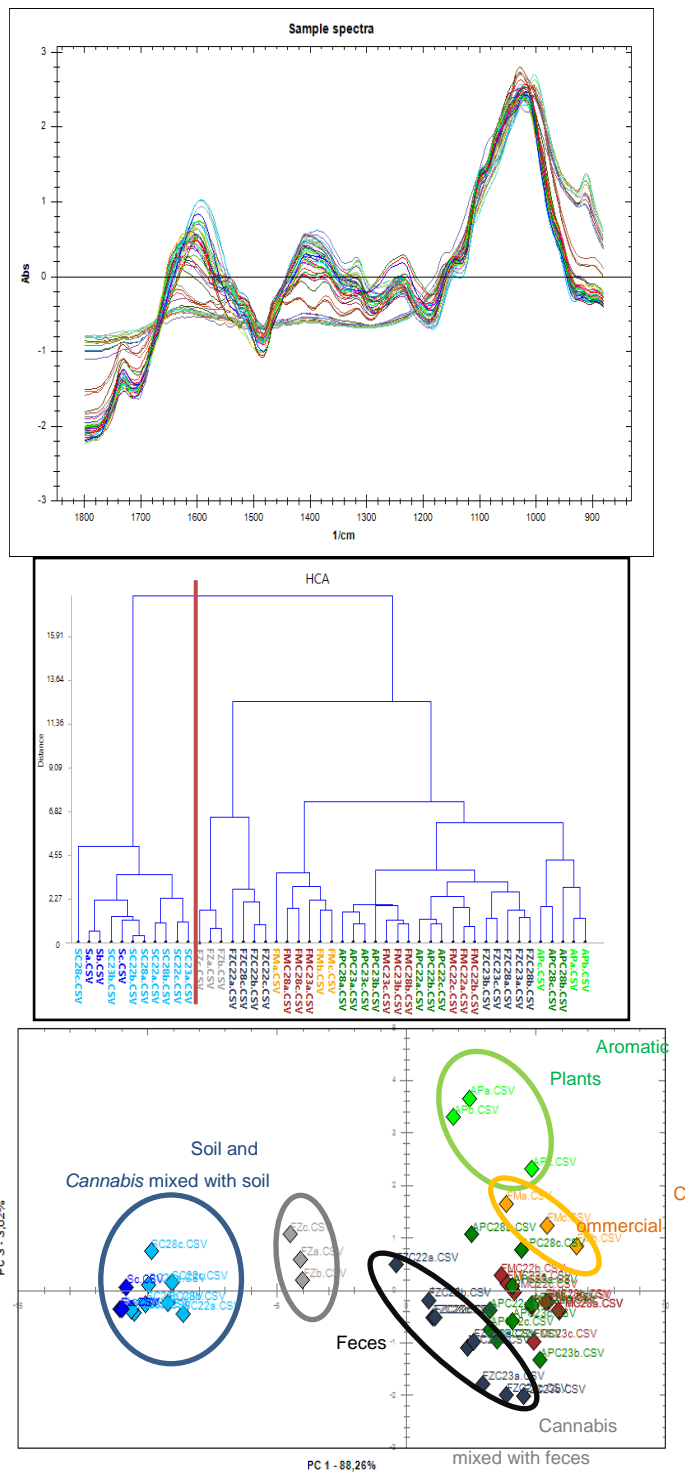


Figure 7: (a) FTIR-ATR spectra of diluents samples and *Cannabis* samples mixed with diluents in triplicate with preprocessing. (b) Dendrogram showing the separation between soil and *Cannabis* mixed with soil (samples named with “S”, in the left) to other diluents and mixed samples. (c) PCA scores showing 88,26% of variance in PC1 to justified the separation between soil and feces samples that are in the negative part of PC1 from the different class of organic material (plants, other diluents, mixed samples and feces).

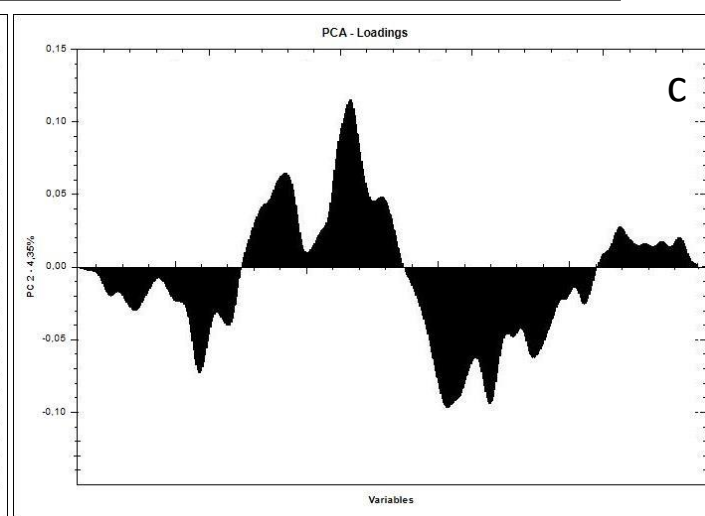
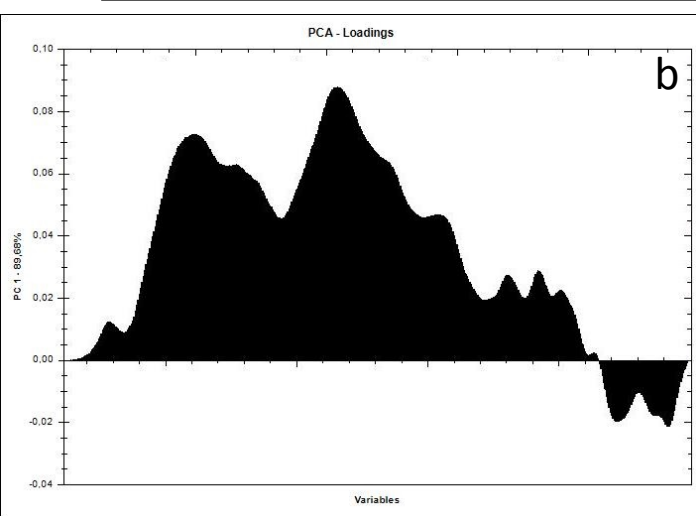
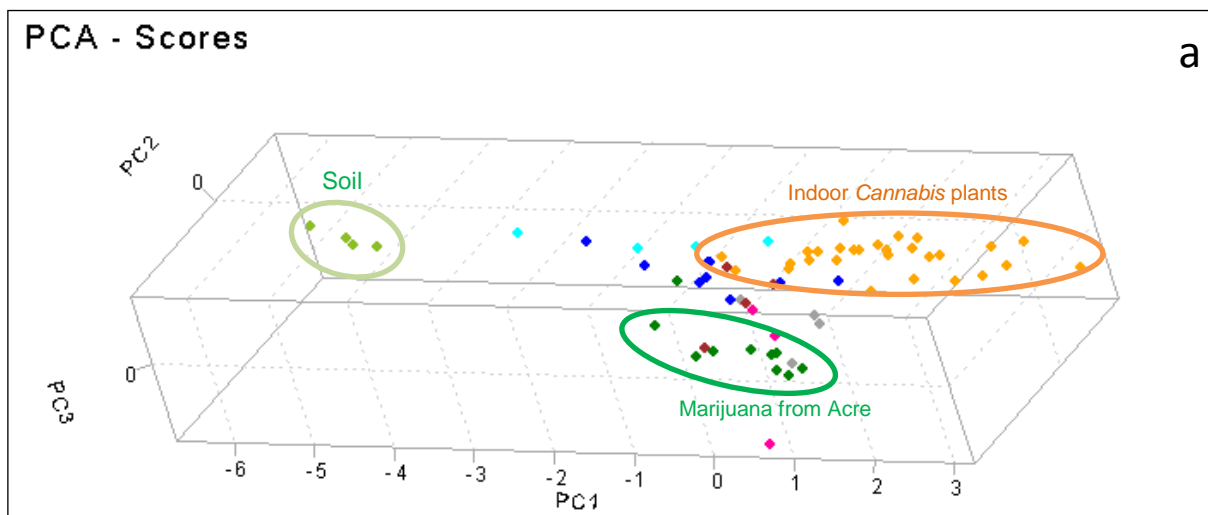


Figure 8: (a) FTIR-ATR average of spectra of Cannabis, marijuana, diluents and Cannabis mixed with diluents samples. (b) PCA score plot 3D of Cannabis, marijuana, diluents and Cannabis mixed with diluents samples. (c) Loadings of contributions of variance of the PC1, PC2, PC3. (light green: soil and soil mixed with Cannabis; green: marijuana from Acre light blue: feces and feces mixed with Cannabis; orange: Cannabis indoor from BFP; grey: commercial tobacco and commercial tobacco with Cannabis; pink: unknown samples; burgundy: aromatic plants and aromatic plants with Cannabis.

A diferenciação entre a planta *Cannabis sativa L.* e suas formas de apresentação é de fundamental importância para não se confundir os termos e conceitos sobre planta usados para pesquisas na área da saúde com a sua forma de apresentação mais comum, a maconha, que é a droga mais utilizada e traficada no mundo (UNODC, 2017; UNODC, 2009). A maconha é formada das partes aéreas da planta secas e prensadas preparadas como mistura para fumar, podendo ter a adição de diluentes e adulterantes para mimetizar seus efeitos e gerar maior lucro para quem a produz e distribui (ELSOHLY, 2007; MAGALHÃES, 2013).

Até então no Brasil, os estudos de perfil químico agregados à pesquisa de diluentes e adulterantes de drogas havia sido proposto pelo Projeto PeQui vinculado a Polícia Federal para delinear o tráfico de cocaína e seus derivados. A partir desse estudo, surgiu a questão de realizar um estudo de perfil químico da droga mais consumida no mundo e no Brasil, a maconha. Este trabalho é resultado de uma pesquisa continuada acerca do perfil químico de *Cannabis sativa L.*, das suas sementes apreendidas pelo DPF (MARIOTTI et al, 2015; BORILLE, 2016; BORILLE, 2017) e de amostras de apreensão de maconha.

As análises de FTIR-ATR aliadas as ferramentas multivariadas não supervisionadas de PCA e HCA foram satisfatórias para separar amostras de apreensão de canábis de cultivo indoor e outdoor de diferentes regiões do país e também possibilitaram a tendência de separação dessas das amostras de maconha apreendidas. Para auxiliar na separação das amostras de maconha foi proposta a análise de um conjunto de diluentes mais comuns encontrados nas amostras. Os resultados de análise dos diluentes demonstraram que podem ser válidas novas pesquisas vinculadas a contaminação de amostras de maconha com fumo. A aplicação de estatística multivariada auxiliou na elucidação dos resultados e abriu um leque pouco explorado nas pesquisas com canábis na ciência forense. A metodologia de infravermelho é vantajosa pois proporcionou um amplo volume de dados a partir de análise rápida; possui baixo custo, o que facilita o uso em diferentes laboratórios forenses pelo país; não inutiliza as amostras, outro fator importante, pois a preservação da prova uma das questões durante os inquéritos policiais; aliada as metodologias multivariadas, podem fornecer informações importantes acerca do perfil químico de amostras de apreensão; auxilia a inteligência policial a conectar produtores e traficantes e ainda e fornece dados para

pesquisa na área da saúde seja para o desenvolvimento de fármacos ou para o tratamento de dependentes.

7. CONCLUSÕES

A análise do perfil químico de amostras de canábis surgiu a partir da necessidade já vista a partir do Projeto PeQui, destinado a análise de amostras de apreensão de cocaína. Até então, existem poucos estudos publicados acerca do tema para canábis, sendo o precursor deste trabalho o estudo de perfil químico de sementes de canábis apreendidas.

A complementação de estudos iniciais com diluentes para canábis foi uma forma complementar de fornecer dados de diferentes aspectos das amostras de apreensão com relevância para química forense.

A análise estatística multivariada pelos métodos não supervisionados de PCA e HCA demonstraram que existe diferença entre amostras de canábis indoor e outdoor e que essas se diferem das amostras de maconha. A análise dos diluentes isolados e de amostras batizadas ao acaso demonstrou que pode haver contaminação das amostras de rua de maconha, esse resultado abriu um precedente as análises forenses de perfil químico da maconha.

As análises de perfil químico realizadas pela metodologia de espectroscopia no infravermelho com uso de ferramentas quimiométricas fornece informações úteis e pontuais para inteligência policial no que diz respeito a conexão de apreensões de drogas de abuso.

8. REFERÊNCIAS

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

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

ANVISA. Canabidiol e THC: norma permitirá registro de produto. Agência nacional de vigilância Sanitária, Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/canabidiol-e-thc-norma-permitira-registro-de-produto/219201?inheritRedirect=false Acesso 10jan2018

ANZANELLO, Michel J. et al. Selecting relevant Fourier transform infrared spectroscopy wavenumbers for clustering authentic and counterfeit drug samples. *Science and Justice*, [s. l.], v. 54, n. 5, p. 363–368, 2014.

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

BORILLE, B.T.; CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA PLANTA *CANNABIS SATIVA* L. A PARTIR DE SEMENTES APREENDIDAS PELA POLÍCIA FEDERAL NO ESTADO DO RIO GRANDE D SUL, 2016. 230 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BORILLE B.T., Near infrared spectroscopy combined with chemometrics for growth stage classification of cannabis cultivated in a greenhouse from seized seeds. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2017 Feb 15;173:318-323.

BORILLE; B.T.; GONZÁLEZ, M.; STTEFENS, L.; ORTIZ, R.S.; LIMBERGER, R.P., *Cannabis sativa*: a systematic review of plant analysis. *Drug Analytical Research*, vol1 nº1

BRASIL. Decreto 79.2388, de 14 de março de 1977. [s. l.], 1977.

BRASIL. Portaria n. 344, de 12 de maio de 1998. Ministério da Saúde, [s. l.], v. 1961, n. c, p. 29, 1998.

BRASIL, No. L. E. I.; DE, D. E. D. E. Agosto. Lei no 11.343, de 23 de agosto de 2006. [s. l.], 2006.

BRASIL. Projeto de Lei no 7188 de 2014. [s. l.], v. 2014, 2013. Disponível em: <<http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=606846>>

BRERETON, R.G.; Applied chemometrics for scientists, 1^a ed. Wiley: Chichester, 2007.

CARLINI, Elisaldo Araújo. A história da maconha no Brasil. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, [s. l.], v. 55, n. 4, p. 314–317, 2006.

COLE, Claire; JONES, Lisa; MCVEIGH et al. Adulterants in illicit drugs: a review of empirical evidence. *Drug Testing and Analysis*. Vol. 3, p. 89-96, 2010.

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

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

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

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

EXLEY, C.; BEGUM, A.; WOOLEY, M.P.; BLOOR, R. N. Aliminum in tobacco and cannabis and smoking-related disease. *The American Journal of Medicine*, Vol. 119, No. 3, 2006.

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

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

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

HILLIG, K. W. et alii. A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in cannabis (cannabaceae). *American Journal of Botany*, v. 91, n. 6, p. 966-975, 2004.
<https://inpad.org.br/wp-content/uploads/2014/03/Lenad-II-Relat%C3%B3rio.pdf>
Acesso em 15 de 1bril de 2017

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

IMDb. Internet Movie Database. Disponível em:
<http://www.imdb.com/title/tt0028346/?ref_=nv_sr_2>. Acesso em: 05 mar. 2018.

INCB. Precursors and chemicals frequently used in the illicit manufacture of narcotic drugs and psychotropic substances. [s. l.], n. Janeiro, p. 136, 2015.

LARANJEIRA, R. et al. Abuso de cannabis em pacientes com transtornos psiquiátricos: atualização para uma antiga evidência. Rev. Bras. Psiquiatr., São Paulo ,v. 32,2010

LARANJEIRA, R. et al II Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD) – 2012. São Paulo: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Políticas Públicas de Álcool e Outras Drogas (INPAD), UNIFESP. 2014

MAGALHÃES, Elisângela Jaqueline; NASCENTES, Clésia C.; PEREIRA, Leandro S.A. et al. Evaluation of the composition of street cocaine seized in two regions of Brazil. Science and Justice. Vol. 53, p. 425-432, 2013.

MALDANER, Adriano O. et al. Brazilian Federal District Cocaine Chemical Profiling - Mass Balance Approach and New Adulterant Routinely Quantified (Aminopyrine). Journal of the Brazilian Chemical Society. Vol. 26, No. 6, p. 1-6, 2013

MARIOTTI K. C., et al. Seized cannabis seeds cultivated in greenhouse: a chemical study by gas chromatography – mass spectrometry and chemometric analysis. Science and Justice. V. 56 P. 35-41. 2015

MCPARTLAND, John M (a). Adulteration of cannabis with tobacco, calamus, and other cholinergic compounds. Cannabinoids, Vol. 3, No. 4, 2008

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

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

MORGAN, C.J.A.; FREEMAN, T.P.; SCHAFFER, G.L.; CURRAN, H.V. Cannabidiol attenuates the appetitive effects of d9-tetrahydrocannabinol in humans smoking their chosen cannabis. Neuropsychopharmacology, v. 35, p. 1879-1885, 2010

NHS - NATIONAL HEALTH SERVICE. Contamination of Herbal or Skunk-type Cannabis with Glass Beads, Department of Health: London, 2007

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

ORTIZ, R. S.; LIMBERGER, R.P., A dose unitária para consumo como elemento auxiliar na caracterização de usuários de drogas. 2017 Disponível em http://www.apcf.org.br/Portals/0/Agencia%20APCF/revista/revista_digital_40/files/basic-html/page38.html Acesso 12 de fevereiro de 2018

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

PASSAGLI M., *Toxicologia forense: teoria e prática*. 4.ed. Campinas: Millennium, 2013

PAVIA, D.L. et al. *Introdução à espectroscopia*. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 700 p.

PERKIN-ELMER. ATR ACCESSORIES. Disponível em https://shop.perkinelmer.com/Content/technicalinfo/tch_atraccessories.pdf Acesso em 15 fev 2018

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

PF - POLÍCIA FEDERAL. Banco de fotos da Polícia Federal, 2014.

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

REITZEL, Lotte Ask et al. A case story, involving the use of maltitol, a sugar alcohol, as a cutting agent in amphetamine and cocaine powders. *Scandinavian Journal of Forensic Science*. Vol. 22, No. 1, p. 6-10, 2016

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

SAMSHA, RESULTS FROM THE 2015 NATIONAL SURVEY ON DRUG USE AND HEALTH. Disponível em <https://www.samhsa.gov/data/sites/default/files/NSDUH-DefTabs-2015/NSDUH-DefTabs-2015/NSDUH-DefTabs-2015.pdf> Acesso em 13 set 2017

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

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

THERMO. FTIR ANALYSYS GUIDE, 2013. Disponível em <https://static.thermoscientific.com/images/D10775~.pdf> Acessado em 15 fev 2018

UNDCP - UNITED NATIONS INTERNATIONAL DRUGCONTROL PROGRAMME. Drug Characterization / Impurity Profiling. Background and Concepts. Nova York: United Nations Publication, 2011.

UNODC - UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. Recommended

methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products. Nova York: United Nations Publication, Sales No. E.09.XI.15, 2009.

UNODC - United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report 2015, United Nations Office on Drugs and Crime: Vienna, 2015

UNODC - United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report 2017, United Nations Office on Drugs and Crime: Vienna, 2017

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

WILLOUGHBY, W. W. Opium as an international problem: the Geneva Conferences. Baltimore, The Johns Hopkins Press, 1925.

ZACCA, J. J. et al. Correlation of Cocaine Hydrochloride Samples Seized in Brazil Based on Determination of Residual Solvents: An Innovative Chemometric Method for Determination of Linkage Thresholds. Analytical Chemistry, v. 85, p. 2457-2464, 2014.

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