

Validação de método cromatográfico por GC-MS/MS na determinação de Δ^9 -tetraidrocanabinol, canabidiol e canabinol em cabelo humano

Elissandro S. Emídio (PG), Vanessa de M. Prata (IC), Sandro Navickiene (PQ), Haroldo S. Dórea* (PQ)

Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos Poluentes (LCP). Departamento de Química. Universidade Federal de Sergipe. Av. Marechal Rondon, s/n. Jardim Rosa Elze. São Cristóvão-SE. Tel: (79) 2105-6654.

*e-mail: hdorea@ufs.br

Palavras Chave: validação, canabinóides, cabelo, GC-MS/MS

Introdução

Desde 1996, quando ocorreu o primeiro encontro da *Society of Hair Testing* (SOHT) discute-se os aspectos legais da análise de cabelo, os critérios para se obter resultados positivos e a relação entre a dose administrada e a concentração do fármaco no cabelo. Em 2004 a SOHT publicou novas recomendações na análise de cabelo em casos forenses¹ e neste mesmo ano, a *Society of Toxicological and Forensic Chemistry* (GTFCh) incluiu detalhes relativos a validação de métodos analíticos toxicológicos forenses e um valor de *cut-off* (valor indicativo de consumo da droga) 0,1 ng.mg⁻¹ para THC em cabelo foi estabelecido². Neste trabalho foi desenvolvido e validado um método utilizando a Microextração em fase sólida por *headspace* (SPME-HS) para a determinação de Δ^9 -tetraidrocanabinol (THC), canabidiol (CBD) e canabinol (CBN) em cabelo humano (cabeça) por GC-MS/MS.

Resultados e Discussão

As análises para validação do método foi realizada pelo GC-ion trap-MS/MS, Varian, CP-3800, coluna capilar VF-5MS (30m x 0,25mm x 0,25 μ m) com temperatura: 150°C (1min); 15°C.min⁻¹ a 280°C por 9 min. Hélio (gás de arraste) com fluxo 0,6 mL.min⁻¹. Temperaturas do injetor (*split/splitless*) e interface de 250°C e 280°C, respectivamente. Os íons pai (m/z), energia de excitação (modo não-ressonante) e íons filhos (m/z) selecionados foram, respectivamente: (THC - 314, 89 volts, 299 e 243); (CBD- 231, 74 volts, 174); (CBN - 295, 88 volts, 238); (THC-d3 – padrão interno, 317, 90 volts, 302 e 234). As amostras foram descontaminadas com éter de petróleo, água destilada e novamente com éter de petróleo em ultra-som por 10 min. A digestão do cabelo foi realizado pela hidrólise alcalina com NaOH. O planejamento univariado foi utilizado para o estudo de otimização, sendo os parâmetros selecionados: pH(10); temperatura(90°C), massa de cabelo(10mg); tempo de adsorção(40min); tempo de dessorção(10min); força iônica 25%(m/v) Na₂CO₃; tempo de saturação (10min). Para extração dos analitos utilizou-se a fibra PDMS 100 μ m no modo *headspace* em um vial de 10 mL. A validação do método envolveu os parâmetros estabelecidos pela GTFCh e requeridos para

análise de drogas em cabelo. Inicialmente, para a seletividade foram analisados seis diferentes brancos da amostra e dois brancos com adição do padrão interno (Figura 1 - B e C). A linearidade consistiu em cinco pontos em triplicata (0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 ng.mg⁻¹) e THC-d3 (4 ng.mg⁻¹) submetidas ao método proposto com coeficientes de determinação (R²): 0,9945 (CBD); 0,9976 (THC); 0,9991 (CBN). A precisão do método se baseou nas concentrações do limite inferior (0,5ng.mg⁻¹) e superior (8ng.mg⁻¹) da curva analítica em duplicata, analisadas em cinco dias diferentes e R.S.D (%) de: 16,4(CBD); 13,3(THC); 13,5(CBN) - 0,5ng.mg⁻¹ e 9,9(CBD); 10,9(THC); 6,6(CBN) - 8ng.mg⁻¹. Os limites de detecção e quantificação foram, respectivamente: 0,007 e 0,01 ng.mg⁻¹(CBD); 0,03 e 0,06 ng.mg⁻¹(THC); 0,01 e 0,03 ng.mg⁻¹(CBN).

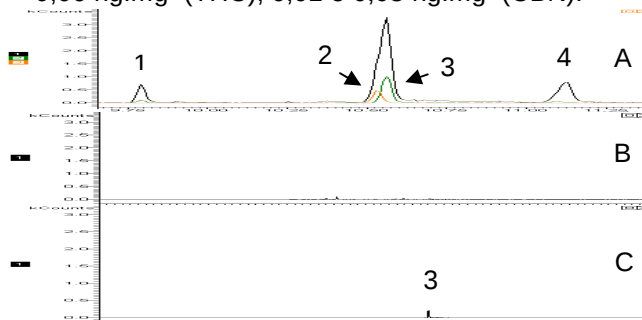


Figura 1. Cromatogramas obtido pela análise por SPME-HS-GC/MS/MS em cabelo. (A) canabinóides na concentração de 5ng.mg⁻¹: 1-CBD; 2-THC-d3; 3-THC; 4-CBN; (B) branco da amostra; (C) branco + THC-d3 (5ng.mg⁻¹).

Conclusões

O método proposto para extração de canabinóides em cabelo por SPME e GC-MS/MS foi validado com boa linearidade, seletividade, precisão intermediária e limites de detecção e quantificação. Para THC o LQ foi de 0,06 ng.mg⁻¹ sendo menor que o valor de *cut-off* estabelecido pela GTFCh e SOHT.

Agradecimentos

A FAPITEC-SE pela bolsa concedida e ao CNPq pelo apoio financeiro.

¹ Society of Hair Testing, Forensic Sci. Int. **2004**, 145, 83.

² Musshoff, F.; Sachs, H.; Thieme, D. *Toxichem & Krimtech.* **2004**, 71, 140.