

TRIAGEM DE CANABINÓIDES EM URINA DE ESTUDANTES DE GRADUAÇÃO

PAIVA, Leonardo Ramos de¹, SILVÉRIO, Alessandra Cristina Pupin²

¹ Acadêmico do Curso de Biomedicina da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), Rodovia MG 179 KM 0, Campus Alfenas - MG 37130-000

² Professora Doutora do Curso de Biomedicina da Universidade José do Rosário Vellano

(UNIFENAS), Rodovia MG 179 KM 0, Campus Alfenas - MG 37130-000

*Autor para correspondência: leonardopaiva@outlook.com

Telefone: (35)9 9742-0631

RESUMO

O principal constituinte ativo da *Cannabis sativa* – a maconha – é o delta-9-tetrahydrocannabinol (delta-9-THC). Os canabinóides exercem vários efeitos fisiológicos devido à interação específica com os receptores canabinóides (receptores CB) presentes no cérebro e na periferia. A urina é um fluido biológico que pode ser utilizado na identificação de drogas devido às concentrações relativamente altas destes compostos e de seus metabólitos nesta matriz, além de apresentar facilidade de coleta, por não ser invasiva. Os objetivos desta pesquisa foram identificar usuários de Cannabis sativa entre os estudantes de graduação de uma cidade do sul de Minas Gerais; determinar a frequência do uso da droga pelos estudantes; analisar a influência do uso da substância nas suas atividades diárias; e conhecer os motivos da utilização da droga por cada estudante, tudo isso através da triagem das amostras de urina coletadas. O método de extração utilizado foi o líquido-líquido após hidrólise alcalina e o método de triagem foi a cromatografia em camada delgada de alta eficiência onde o metabólito delta-9-tetrahydrocannabinol foi visualizado por uma reação com Fast Blue BB. Além disso foram aplicados questionários aos voluntários. Observou-se a presença de canabinóides em 81,8% das amostras coletadas e a maioria dos voluntários que responderam ao questionário afirmaram que o uso da droga não causa sentimento de depressão ou desapontamento nem prejudica o aprendizado ou o desenvolvimento

de outras atividades. Contudo, afirmaram que a droga auxilia no relaxamento do usuário e causa um aumento do prazer no sexo.

Palavras-chave: Cannabis, maconha, canabinóides, toxicologia, THC, tetrahydrocannabinol.

ABSTRACT

The main active constituent of *Cannabis sativa* - marijuana - is delta-9-tetrahydrocannabinol. Cannabinoids exert various physiological effects due to the specific interaction with cannabinoid receptors present in the brain and the periphery. Urine is a biological fluid that can be used to identify drugs due to the relatively high concentrations of these compounds and their metabolites in this matrix, in addition to being easy to collect, as it is not invasive. The objectives of this research were to identify users of Cannabis sativa among undergraduate students in a city in the south of Minas Gerais; determine the frequency of drug use by students; analyze the influence of substance use on your daily activities; and to know the reasons for the use of the drug by each student, all through the screening of urine samples collected. The extraction method used was liquid-liquid after alkaline hydrolysis and the screening method was high efficiency thin layer chromatography where the metabolite delta-9-tetrahydrocannabinol was visualized by a reaction with Fast Blue BB. In addition, questionnaires were applied to the volunteers.



The presence of cannabinoids was observed in 81.8% of the samples collected and most of the volunteers who answered the questionnaire stated that the use of the drug does not cause feelings of depression or disappointment, nor does it impair the learning or development of other activities. However, they stated that the drug helps to relax the user and causes increased pleasure in sex.

Keywords: Cannabis, marijuana, cannabinoids toxicology, THC, tetrahydrocannabinol.

1 INTRODUÇÃO

O principal constituinte ativo da *Cannabis sativa* – a maconha – é o delta-9-tetrahydrocannabinol (delta-9-THC). [1]. Os canabinóides exercem vários efeitos fisiológicos devido à interação específica com os receptores canabinóides (receptores CB) presentes no cérebro e na periferia [2].

A Cannabis apresenta efeitos comportamentais e fisiológicos. Os efeitos comportamentais incluem sentimento de euforia e relaxamento, percepção do tempo alterada, falta de concentração, prejuízos de aprendizado e memória e alteração do humor com as reações de pânico e paranoia [3]. Os efeitos fisiológicos podem ser alterações na frequência cardíaca e na pressão sanguínea diastólica, boca e garganta seca, aumento do apetite, vasodilatação e diminuição da frequência respiratória e alterações no sistema inume e endócrino [2].

A urina é um fluido biológico que pode ser utilizado na identificação de drogas devido às concentrações relativamente altas destes compostos e de seus metabólitos nesta matriz, além de apresentar facilidade de coleta, por não ser invasiva [4].

Quando congelada, pode servir para análise por dias, pois a partir do uso, a droga permanece na urina por tempo determinado, podendo resultar em um falso-negativo. Estando congelada, a amostra pode permanecer positiva por um longo período de tempo, garantindo estabilidade, porém, da mesma forma é necessário que a coleta seja vigiada, uma vez que é de fácil adulteração [5].

Com base em um limite de decisão, pode-se concluir se o uso da droga foi ocasional, moderado ou pesado. Tendo um limite de detecção relacionado a uma frequência maior de concentrações de THCCOOH na amostra colhida inferior a 50 ng/mL, por um período curto de tempo, entre 24 e 36 horas; para maior certeza de um uso ocasional, o limite de decisão deveria baixar para 20 a 25 ng/mL, porém poucos equipamentos são capazes de atingir tal sensibilidade. Considera-se uso moderado quando a concentração de canabinóides na matriz biológica está entre 50 e 100 ng/mL; e pesado quando a concentração dos metabólitos da droga na urina ultrapassa 100 ng/mL [6].

2 MATERIAL E MÉTODOS

O delta9-THCCOOH é o metabólito encontrado em maior proporção na urina e foi extraído dessa matriz biológica e separado de outros constituintes e depois visualizado por uma reação com FastBlue BB [6].

As onze amostras coletadas foram de urina, utilizando potes de plástico apropriados para a coleta e armazenados em caixas de isopor, com gelo para a conservação e também para facilitar no transporte. Essas amostras foram coletadas em Alfenas, Sul de Minas Gerais, dando enfoque para a população universitária que aceitou participar da pesquisa. Estes sujeitos assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

Foi auto aplicado um questionário padronizado em recinto fechado para que não acontecesse constrangimentos para o sujeito da pesquisa. Não houve identificação mantendo sempre o sigilo com os dados para evitar perdas e desvios dos mesmos.

A coleta de urina foi feita em local adequado e reservado para evitar constrangimento. A coleta de urina não apresentou risco a não ser de constrangimento. Cada sujeito entregou o pote com urina e estava numerado de acordo com o código usado no questionário. As amostras de urina foram mantidas a 0°C até análise.

O método de extração utilizado foi líquido-líquido após hidrólise alcalina para liberação do



metabólito. O extrato orgânico foi evaporado em banho de água a 65°C. Para aplicação na cromatoplaça o extrato foi ressuspensionado com solvente orgânico e aplicado.

Foram utilizadas Cromatoplaças de CCDAE – sílica gel 60 F254 – 10x60cm. A partir dessa solução, foi preparada uma solução a 5 micrograma por mL em Metanol, em frasco âmbar (solução de trabalho). Ambas as soluções foram mantidas no congelador; solução de KOH 11,8 M; reagentes e solventes grau P.A.: Hexano, heptano, metanol, clorofórmio, butanol, dietilamina, ácido ascético glacial; solução aquosa de Fast Blue BB a 0,1% [6].

Os participantes concordaram participar da pesquisa e assinaram o Termo de consentimento Livre e Esclarecido. O trabalho teve aprovação do comitê de Ética em pesquisa sob número de parecer 3.512.762

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

É preciso compreender que o trabalho se divide, de certa forma, em duas partes, sendo elas a análise dos questionários e a análise das amostras de urina. Em relação aos questionários, três indivíduos não responderam, o que faz com que haja apenas nove voluntários nesta primeira parte da pesquisa. Já em relação à doação das amostras de urina para análise obteve-se onze amostras, sendo que todas foram analisadas independentemente do número de questionários. Através da análise dos questionários respondidos, observou-se que 33,3% dos voluntários são do sexo masculino enquanto 66,6% são do sexo feminino; que todos os indivíduos entrevistados possuem idade entre 18 e 25 anos.

De acordo com o que foi analisado também, constatou-se que 33,3% dos graduandos que responderam ao questionário não se consideram

dependentes de nenhuma outra droga, enquanto 11,1% se considera dependente de álcool, 11,1% de nicotina, 44,4% de derivados do tabaco. Nessa questão 11,1% dos indivíduos se absteram de resposta.

Quando questionados se consideravam-se dependentes da maconha, 44,4% dos entrevistados afirmaram que sim enquanto 44,4% dos mesmos afirmaram que não. Neste quesito também 11,1% dos indivíduos se absteram de resposta.

55,5% dos voluntários afirmaram que usam a droga diariamente, 22,2% afirmaram ter uma frequência de uso semanal, 11,1% mensal e 11,1% dos entrevistados deixaram de responder esta pergunta.

Em relação à dose de uso, 22,2% afirmaram que usam um cigarro por dia, 11,1% que usam dois cigarros por dia, 22,2% três cigarros de maconha ou mais por dia. Em uma relação semanal, 22,2% dos estudantes de graduação entrevistados afirmaram usar 3 cigarros ou mais. Ainda, 11,1% responderam que a dose usada é de 2 cigarros por mês e, por fim, 11,1% dos universitários participantes da pesquisa não quiseram responder.

Quando a questão foi sobre o a última vez em que a maconha foi consumida, 33,3% dos voluntários disseram ter sido no dia da entrevista, 22,2% nos últimos sete dias, 11,1% nos últimos quinze dias, e 33,3% absteram-se de resposta.

Em relação a dose deste último uso, 44,4% afirmaram terem usado um cigarro, 11,1% dois cigarros, 11,1% três cigarros e 33,3% não responderam à questão.

Na Tabela 1, temos os dados apresentados traçando o perfil dos voluntários.



Tabela 1 – Perfil dos voluntários do projeto, traçado por meio de pesquisa qualitativa e quantitativa

	Masculino	Feminino	Outros
Sexo	33,3% (3)	66,6% (6)	0% (0)
	Entre 18 e 25 anos		
	Entre 25 e 35 anos		
	Maior de 35 anos		
Idade	Menor de 18 anos	Entre 18 e 25 anos	Maior de 35 anos
	0% (0)	100% (9)	0% (0)
	Dependência de outras		
	Álcool	Nicotina	Tabaco ou Hipnóticos ou sedativos
			Alucinógenos
			Opióides
			Nenhuma dessas
			Sem resposta
Dependência de outras	Álcool	Nicotina	Tabaco ou Hipnóticos ou sedativos
			Alucinógenos
			Opióides
			Nenhuma dessas
			Sem resposta
Se considera dependente	Sim	Não	Sem resposta
	44,4% (4)	44,4% (4)	11,1% (1)
	Frequência de uso		
	Diária	Semanal	Mensal
			Sem resposta
	55,5% (5)	22,2% (2)	11,1% (1)
	Dose de uso		
	1 (um) cigarro por dia	2 (dois) cigarros por dia	3 (três) ou mais cigarros por dia
	22,2% (2)	11,1% (1)	22,2% (2)
	1 (um) cigarro por semana	2 (dois) cigarros por semana	3 (três) ou mais cigarros por semana
	22,2% (2)	11,1% (1)	22,2% (2)
	1 (um) cigarro por mês	2 (dois) cigarros por mês	3 (três) ou mais cigarros por mês
	11,1% (1)	11,1% (1)	11,1% (1)
	Último uso		
	Últimos 7 dias	Últimos 15 dias	Há mais de 2 meses
	33,3% (3)	22,2% (2)	11,1% (1)
	Dose do último uso		
	1 cigarro	2 cigarros	3 cigarros
	44,4% (4)	11,1% (1)	11,1% (1)

Fonte: Do autor

Uma vez que o trabalho usa a ideia de voluntários para pesquisa, não se justifica por alguma fonte científica o fato de mais pessoas do sexo feminino estejam presentes na pesquisa, não sendo um sinal, necessariamente, de que o número de mulheres usuárias de maconha seja maior que o de homens em sua totalidade, por ser um dado utilizado somente para a criação do perfil dos voluntários.

Todos os participantes do experimento estão numa faixa etária de 18 a 25 anos. Este é um período do desenvolvimento em que ocorrem mudanças físicas, mentais e sociais. Nesta fase, pequenas mudanças podem impactar no resto da vida toda [7]. É, também, uma época de descobertas e experimentação, quando uma grande quantidade de pessoas usa o álcool e as outras drogas pela primeira vez [8], podendo continuar o consumo dessas substâncias ao longo da vida ou não.

Geralmente os jovens iniciam suas experiências com as drogas consideradas lícitas, como o álcool e o tabaco em seus ambientes familiares. Após, podem recorrer às ilícitas para aumentar o seu prazer, procurar outras emoções ou fugir de seus problemas, sendo os inalantes e a maconha as drogas mais consumidas nesta fase [9].

Apenas 44,4% dos entrevistados se declararam como dependentes da maconha, enquanto outros 44,4% disseram o contrário, o que é, de certa forma, contraditório ao fato de que mais da metade dos indivíduos participantes afirmaram que seu uso da droga é diário, se não, semanal com mais de 3 cigarros neste período e, ainda, a maioria dos que responderam a questão sobre o último consumo disseram que havia sido naquele mesmo dia da pesquisa.

Isso mostra que nem sempre todos os números que são apresentados em pesquisas quantitativas são totalmente realistas pois a classificação como dependente ou não, por exemplo, é feita pela própria pessoa, que pode se considerar assim ou não.

Para a análise dos possíveis efeitos que o uso da maconha pode causar, foram aplicadas ainda 17 questões aos graduandos voluntários, onde deveriam responder em uma escala de 1 a 7, onde 1 corresponde a “descordo totalmente”, 2 a “discordo”, 3 a “discordo parcialmente”, 4 a “nem concordo nem discordo”, 5 a “concordo parcialmente”, 6 a “concordo” e 7 corresponde a “concordo totalmente”. Para o presente artigo foram escolhidas para exposição as 10 perguntas consideradas mais relevantes e com respostas mais conclusivas (TAB. 2).



Tabela 2 – Resultados de pesquisa quantitativa feita aos universitários voluntários sobre efeitos da maconha nas suas vidas

	1	2	3	4	5	6	7
Fuga da realidade	33,3% (3)	22,2% (2)	22,2% (2)	22,2% (2)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
Aumento do interesse nas coisas	0% (0)	0% (0)	44,4% (4)	0% (0)	22,2% (2)	22,2% (2)	11,1% (1)
Alteração da percepção das coisas	0% (0)	0% (0)	0% (0)	22,2% (2)	22,2% (2)	11,1% (1)	44,4% (4)
Aumento no relaxamento	0% (0)	0% (0)	11,1% (1)	0% (0)	11,1% (1)	22,2% (2)	55,5% (5)
Prejudicação da memória	11,1% (1)	33,3% (3)	0% (0)	33,3% (3)	0% (0)	11,1% (1)	11,1% (1)
Aumento do prazer no sexo	0% (0)	0% (0)	11,1% (1)	11,1% (1)	11,1% (1)	11,1% (1)	55,5% (5)
Aumento da dispersão e/ou dificuldade na concentração	33,3% (3)	33,3% (3)	11,1% (1)	11,1% (1)	11,1% (1)	0% (0)	0% (0)
Prejudicação no aprendizado e/ou no desempenho no trabalho	55,5% (5)	11,1% (1)	22,2% (2)	11,1% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
Sentimento de depressão e desapatamento consigo mesmo	77,7% (7)	11,1% (1)	11,1% (1)	11,1% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
Auxílio em lidar com sentimentos ruins	33,3% (3)	11,1% (1)	11,1% (1)	11,1% (1)	22,2% (2)	11,1% (1)	0% (0)

Fonte: Do autor

Quando questionados se o uso da maconha lhes causava uma fuga da realidade, 33,3% dos entrevistados afirmaram que discordam totalmente da afirmação enquanto 22,2% assinalaram ou a alternativa 2, 3, ou 4. Ninguém concordou parcialmente ou totalmente com esta afirmação.

44,4% dos voluntários discordaram em partes de que o consumo da maconha aumenta o interesse nas coisas, enquanto 22,2% foram indiferentes (assinalando 4), outros 22,2% concordaram parcialmente, outros 22,2% ainda concordaram, porém apenas 11,1% concordaram totalmente.

Quase metade dos entrevistados (44,4%) concordaram totalmente ao se dizer que o consumo da maconha altera a percepção de todas as coisas, como músicas, imagens etc. Enquanto isso 22,2% marcaram 4 ou 5 na escala proposta e 11,1% marcaram 6, ou seja, concordam.

Quanto a afirmação de que o uso desta droga de abuso ajuda o indivíduo a relaxar, a grande maioria foi de pessoas que concordam em partes ou até totalmente (11,1% concordam parcialmente, 22,2% concordam e 55,5% concordam totalmente), enquanto somente 11,1% discorda parcialmente.

Quanto ao prejuízo da memória pelo consumo da Cannabis, 11,1% assinalaram 1, 33,3% assinalaram 2, outros 33,3% assinalaram 4, 11,1% assinalaram 6 e, por fim, 11,1% assinalaram 7 na escala entre “discordo totalmente” e “concordo totalmente”.

A maioria dos indivíduos entrevistados concordo, de alguma forma, que a maconha aumenta o prazer no sexo (11,1% concordam parcialmente, 11,1% concordam e 55,5% concordam totalmente), enquanto 11,1% não discorda nem concorda com tal afirmação e outros 11,1% discordam em partes com a mesma.

77,7% dos graduandos entrevistados discordaram, de alguma forma, de que a maconha possa aumentar a dispersão e/ou a dificuldade de concentração do indivíduo que a consome, sendo que 33,3% discordaram totalmente, 33,3% discordaram e 11,1% discordaram em partes. Ainda 11,1% dos voluntários foram indiferentes à afirmação, marcando a opção 4.

A grande maioria discordou de que o uso da maconha prejudique o aprendizado ou o desempenho no trabalho. 55,5% discorda totalmente, 11,1% discorda, 22,2% discorda em partes, enquanto 11,1% não concorda, mas também não discorda de tal afirmação.



Uma notável maioria discorda totalmente de que a maconha cause um sentimento de depressão e/ou desapontamento consigo mesmo (77,7%). Enquanto isso, 11,1% discorda e outros 11,1% discorda parcialmente.

Quanto a afirmação de que o consumo da droga em questão auxilie com sentimentos ruins como tristeza, angústia etc., os resultados foram bem variados, surpreendentemente. Na escala proposta, 33,3% marcaram 1, 11,1% 2, 11,1% 3, 11,1% 4, 22,2% 5 e 11,1% marcaram 6.

A Cannabis apresenta efeitos comportamentais e fisiológicos. Os efeitos comportamentais incluem sentimento de euforia e relaxamento, percepção do tempo alterada, (o que confirma os dados coletados), falta de concentração, prejuízos de aprendizado e memória e alteração do humor com as reações de pânico e paranoia (o que entra em discordância com o que se obteve [3]).

Quanto às análises das amostras, observou-se a presença de cannabinoides em 81,8% das amostras coletadas enquanto somente uma amostra não apresentou traços visíveis de cannabinoides, correspondendo a 9,09% das amostras.

A partir da triagem em cromatoplas, foi possível visualizar a cor vermelho tijolo considera positiva para cannabinoides e calcular o resultado do hRF das 11 amostras. Mais uma vez cabe lembrar que 11 pessoas doaram a amostra biológica, porém somente 9 responderam aos questionários.

Para as amostras 1 e 11, o hRF foi de 54,2; para as amostras 2, 3, 4 e 10, o resultado foi 52,8 e para as urinas 8 e 9 o hRF foi de 50. Porém, o cálculo do hRF de algumas amostras de urina não foi possível de ser realizado devido a alguns fatores. Essa variação no hRF é totalmente aceitável diante da técnica de cromatografia de camada delgada, porém compatíveis com a cor e características apresentadas pelo padrão (TAB. 3).

Tabela 3 - Presença ou ausência de cannabinoides nas amostras de urina e valor do hRF (Fator de Retenção).

Presença ou ausência de cannabinoides	Positivo	Negativo											
	90,9% (10)	9,09% (1)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Amostra													
hRF	54,2	52,8	52,8	52,8	*	*	*	50	50	52,8	54,2		

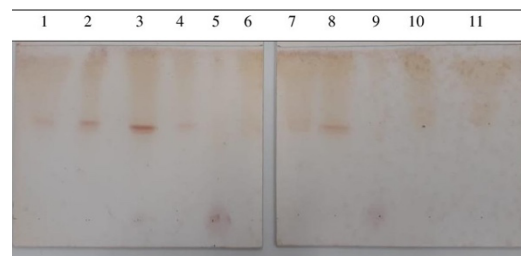
No caso da urina 5, o resultado foi inconclusivo pois durante o procedimento de extração formou-se emulsão, o que fez com que o analito não se deslocasse pela placa, permanecendo acumulado no local da aplicação.

A amostra 6 não apresentou presença visível de cannabinoides, não havendo desenvolvimento na placa, sendo negativo para presença do metabólito.

Por fim, na cromatoplas também não foi observado o desenvolvimento do analito sobre sua superfície correspondente à amostra 7, não se sabe o motivo, porém o resultado foi positivo para a presença de cannabinoides.

As maiores concentrações de cannabinoides, onde a cor avermelhada está mais forte, estavam nas amostras 2, 3 e 8. Nas demais a concentração encontrada foi baixa e, em alguns casos, quase que imperceptível, porém existente. (FIG. 1)

Figura 1 – Cromatoplas onde foram aplicadas as amostras preparadas para análise por HPLC (amostras de 1 a 11, contando da esquerda para direita)



Fonte: Do autor

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que, de fato, a triagem de urina pelo método Cromatografia de camada fina de alto desempenho é eficaz na identificação de

diferentes concentrações de cannabinoides (metabólitos da *Cannabis sativa*/maconha), assim sendo, identificando os usuários desta droga de abuso.

Pode-se afirmar também que, através de uma pesquisa qualitativa e quantitativa, pela aplicação de questionários, quase metade dos entrevistados se dizem dependentes químicos da maconha; que mais da metade dos alunos submetidos à pesquisa consomem diariamente a droga; e que estes estudantes percebem influência da maconha somente em algumas áreas de suas vidas como no aumento do prazer sexual, na percepção das coisas que estão ao seu redor e no relaxamento, que é um dos maiores motivos para o uso desta droga.

REFERÊNCIAS

- [1] DRUMMER, O.; ODELL, M. A. **Farmacologia Forense das drogas de abuso**. Austrália: CRC Press, 2001.
- [2] SHARMA, P.; MURTHY, P.; BHARATH, MM Srivinas. C. **Metabolism, and Toxicology of Cannabis**: Clinical Implications. Iran J Psychiatry, b. 7, n. 149-156, 2012.
- [3] HUESTIS, M. A. In: LEVINE, B. **Principles of Forensic Toxicology**. USA, 1999. Cap. 14, p. 246-264.
- [4] PIZZOLATO, T. M. et al – based analysis of drugs of abuse and their, metabolites in urine. **Trends Analyt Chem**, v. 26, n. 6, p. 609-624, 2007.
- [5] LISBOA, M. P. **Matrizes Biológicas de Interesse Forense**. 2016. 45 f. (Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra. 2016.
- [6] MOREAU, R. L. M.; SIQUEIRA, M. E. P. B. de. **Ciências Farmacêuticas: Toxicologia Analítica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- [7] DANIELSSON, A. et al. Adolescent alcohol use trajectories and subsequent problems. **Addictive Behaviors**, v. 35, n.9 p 848-52, Sep. 2010.
- [8] SMYTH, B. P.; KELLY, A.; COX, G. Decline in age of drinking onset in Ireland, gender and per capita alcohol consumption. **Alcohol and Alcoholism**, v. 46, n. 4, p. 478-84, 2011.
- [9] BUCHER, R. 1992. **Drogas e drogadição no Brasil**. Artes Médica, Porto Alegre.