

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DE CANABINÓIDES EM AMOSTRAS DE FLUIDO ORAL POR LC-MS/MS

Mónica Antunes^{1,2*}, Susana Simões², Suzana Fonseca², João Franco², Eugenia Gallardo^{1,3,4}, Mário Barroso²

¹ Centro de Investigação em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior (CICS-UBI), Covilhã, Portugal

² Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, Delegação do Sul, Serviço de Química e Toxicologia Forenses, Lisboa, Portugal

³ Laboratório de Fármaco-Toxicologia-UBIMedical, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

⁴ Centro Académico Clínico das Beiras (CACB) – Grupo de Problemas Relacionados com Toxicofílias, Covilhã, Portugal

*Autor correspondente: antunes.ss.monica@gmail.com.

A canábis é a droga de abuso mais consumida na Europa, pelo que várias metodologias analíticas têm sido desenvolvidas para a quantificação dos seus componentes em matrizes biológicas, especialmente sangue e urina. No entanto, cada vez mais se está a reconhecer a importância do estudo de matrizes biológicas não-convencionais, nomeadamente cabelo e fluido oral (ou saliva) – os seus procedimentos de recolha não são invasivos e estas amostras fornecem informações complementares sobre o uso de drogas, permitindo o controlo da exposição recente (saliva) e de médio a longo prazo (cabelo).

Desta forma, foi desenvolvida uma metodologia analítica para a determinação e quantificação de tetrahydrocannabinol (THC), 11-hidroxi-tetrahydrocannabinol (THC-OH), 11-carboxi-tetrahydrocannabinol (THC-COOH), cannabinol (CBN) e canabidiol (CBD) em amostras de saliva por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa em tandem (LC-MS/MS).

Segundo as Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs, o *cut-off* de THC em amostras de saliva é 2 ng/mL, exigindo um procedimento de extração otimizado e a utilização de uma técnica cromatográfica sensível.

Resumidamente, a 200 µL de saliva foi adicionado o padrão interno, e as amostras foram submetidas a precipitação proteica com uma mistura de metanol/acetonitrilo (80:20, v/v) refrigerada. Depois de centrifugados, os extratos foram evaporados até à secagem, reconstituídos em metanol, e 5 µL foram injetados no equipamento UPLC-QTRAP-MS 6500+ (SCIEX®), numa corrida de 14 minutos. A análise foi efetuada em modo MRM com duas transições para cada composto e uma transição para cada padrão interno.

Os métodos foram validados de acordo com as diretrizes da norma ANSI/ASB 036, tendo sido estudados os parâmetros supressão iónica, interferentes, linearidade, precisão e exatidão, *carryover*, limites de deteção e quantificação, efeito de diluição e estabilidade das amostras extraídas. Todos os estudos destes parâmetros apresentaram resultados satisfatórios, e o método foi aplicado com sucesso a amostras reais.

O método desenvolvido mostrou-se fácil, rápido, eficaz e robusto, estando apto para ser utilizado na rotina do laboratório, e sendo uma ferramenta complementar útil para o estudo do consumo recente de canabinóides.

Agradecimentos: FCT (referências: 2020.05765.BD, UIDB/00709/2020 e UIDP/00709/2020), Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (PORTUGAL 2020) e Programa Operacional do Centro (CENTRO 2020).

Palavras-chave: Canabinóides; fluido oral; LC-MS/MS.