

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO URINÁRIA DE TETRAHIDROCANABINOL (THC) E SEU PRINCIPAL METABÓLITO NA URINA DE USUÁRIOS DE *CANNABIS* ASSISTIDOS EM HOSPITAL PSIQUIÁTRICO NO RIO DE JANEIRO

Recebido em 11/07/2014

Aceito para publicação em 11/08/2014

CT (S) Carla Sales Maia¹
1ºTen (S) Daniel Filisberto Schulz²
André Luís Mazzei Albert³
Rosângela Sabbatini Capella Lopes⁴
Cláudio Cerqueira Lopes⁵

RESUMO

Globalmente, a *Cannabis* continua sendo a droga de abuso mais consumida, com prevalência anual variando entre 2,6 e 5,0 %, estimando-se uma população consumidora estável entre 119 e 224 milhões de usuários. A constatação do consumo de drogas está inserida na área forense, na detecção e acompanhamento no ambiente laboral e, apresenta-se como ferramenta para o profissional de saúde no monitoramento do tratamento do dependente químico. Neste trabalho, apresenta-se a avaliação dos níveis da droga excretada na urina a partir de uma metodologia analítica desenvolvida para investigação simultânea e rápida da presença de tetrahydrocannabinol (THC) e seu principal metabólito, 11-nor-9-carboxi- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC-COOH), em usuários da droga, utilizando a resina de troca aniônica Dowex® e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (CLAE-EM/EM). A partir da aplicação do questionário sócio-econômico constatou-se um padrão de poliusuário entre os entrevistados, com idade média de 38,22 anos e com renda de até 4 salários mínimos. Em 33% dos pacientes, o THC-COOH foi detectado acima do valor de corte estabelecido por diretriz americana. Os resultados permitiram traçar o perfil do usuário assistido na instituição de saúde e avaliar as concentrações urinárias do metabólito nos voluntários participantes.

Palavras-chave: *Cannabis*; Dronabinol/análogos & derivados; Cromatografia Líquida; Resinas de Troca Iônica.

INTRODUÇÃO

Aproximadamente 6,6 % da população mundial, com idade entre 15 e 64 anos, já fizeram uso de alguma droga ilícita. A toxicodpendência implica em consequências negativas tanto para o dependente químico quanto para a sociedade. O impacto do consumo, em termos monetários parece substancial, podendo colocar um pesado encargo financeiro para a sociedade, em cifras que giram em torno de US\$ 200 a 250 bilhões, cerca de 0,3 a 0,4 % do produto interno bruto global. Contudo, apenas um em cada cinco usuários que necessitam de tratamento pelo abuso de drogas efetivamente o recebe. Estima-se que 99.000 a 253.000 mortes no mundo, em 2010, estavam associadas ao consumo de drogas. A *Cannabis* e suas preparações continuam sendo a droga mais consumida no mundo. Dados do ano de 2010 apontam para uma prevalência estimada de 2,6 a 5,0 % da população adulta consumidora da erva, representando 119 a 224 milhões de usuários. As preparações mais comumente utilizadas são a popular maconha e a resina, também conhecida como haxixe.¹

¹Farmacêutica. Encarregada da Divisão de Pesquisas do Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) do Hospital Naval Marcílio Dias. E-mail: carla.maia@hnmd.mar.mil.br

²Farmacêutico. Encarregado do Laboratório de Bioanálises do Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) do Hospital Naval Marcílio Dias. E-mail: schulz@hnmd.mar.mil.br

³Engenheiro Químico. Fundação Oswaldo Cruz. E-mail: andre.mazzei@incqs.fiocruz.br

⁴Farmacêutica. Universidade Federal do Rio de Janeiro. E-mail: sabbatini@iq.ufrj.br

⁵Farmacêutico. Universidade Federal do Rio de Janeiro. E-mail: claudioc@iq.ufrj.br

Governos, empresas privadas e outras organizações têm implantado rigoroso programa para desencorajar a utilização da droga e acompanhar os casos de abstinência. As implicações incluem desde a perda do emprego, licença para dirigir, multas e até prisão.² A substância psicoativa da *Cannabis*, o tetrahydrocannabinol (THC), também está incluída na lista de substâncias proibidas pela Agencia Mundial *Anti-Doping*, pelo inquestionável prejuízo à saúde dos atletas.³

A detecção do uso de *Cannabis* depende, principalmente, da dose utilizada, da sensibilidade do método de análise, da forma de preparo da droga, via de administração, duração de uso (agudo ou crônico), da matriz escolhida para análise, do pH e das variações interindividuais do metabolismo. A alta lipofilicidade do THC e sua afinidade pelos tecidos, em especial o tecido adiposo, altera seu padrão de distribuição a todo o tempo. O THC penetra rapidamente em tecidos vascularizados, entre eles: fígado, coração, rins, pulmões, glândulas mamárias, placenta, músculos, entre outras, apresentando baixos níveis plasmáticos. O THC sofre uma alta reabsorção tubular resultando em baixas concentrações dessa substância na urina, porém, 20 a 35 % do THC é eliminado, especialmente, como metabólito inativo 11-nor-9-carboxi- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC-COOH) que, conjugado com o ácido glucurônico, tem sido identificado como maior produto de biotransformação em muitas espécies, incluindo o homem.⁴

A *Substance Abuse & Mental Health Services Administration* (SAMSHA) recomenda um valor de corte de 15 ng.mL⁻¹ de THC-COOH na urina para um resultado ser considerado positivo para uso de canabinóides. Na urina o THC-COOH não é eliminado monotonamente e sua concentração pode flutuar, o que leva à obtenção de resultados positivos ou negativos por alguns dias, dependendo do período em que houve a coleta. O THC também pode ser detectado na urina e sua presença indica o consumo recente de preparações de *Cannabis*, evidenciado em estudos controlados com voluntários recebendo doses conhecidas de THC, que esta substância é detectada nas primeiras 5 horas após o consumo da droga.⁵

Normalmente os imunoensaios são realizados preliminarmente nos programas de análise de drogas, contudo, em função de sua baixa especificidade, estes testes podem gerar resultados falsos-positivos ou falsos-negativos, o que requer a utilização de técnicas confirmatórias como as cromatográficas, preferencialmente acopladas à espectrometria de massas, para a identificação inequívoca,² tendo em vista que questões jurídicas, de saúde e social podem estar atreladas à liberação de um laudo com resultado positivo para a presença da droga.

A proposta deste trabalho é avaliar as concentrações de THC e THC-COOH na urina de pacientes usuários de *Cannabis* assistidos em um hospital psiquiátrico no Rio de Janeiro buscando traçar um paralelo entre as informações advindas dos voluntários e os achados laboratoriais, correlacionando com as informações farmacocinéticas da droga. O método analítico aplicado, desenvolvido no Instituto de Pesquisas Biomédicas do Hospital Naval Marcílio Dias (HNMD), para análise simultânea de THC e seu metabólito ácido inativo, THC-COOH, utilizando no processo de extração uma resina de troca aniônica seguida da análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (CLAE-EM/EM).

MÉTODO

Reagentes

Hidróxido de sódio, carbonato de sódio, ácido fórmico, formiato de amônio, resina Dowex® Cl 1x8 200-400 mesh e acetato de etila foram obtidos da Sigma Aldrich (St. Louis, USA); bicarbonato de sódio, acetonitrila HPLC e hexano foram adquiridos da J.T. Baker (USA); metanol HPLC de J.T. Baker (México), e ácido clorídrico da MACRON. A água utilizada nas análises foi obtida do sistema ultrapurificador GEHAKA. Gás nitrogênio foi fornecido pela Air Liquid (Brasil).

Padrões

Os padrões certificados de THC (1,0 mg.mL⁻¹), THC-COOH (100,0 µg.mL⁻¹) e o padrão interno THC-COOH-d₃ (100 µg.mL⁻¹) foram adquiridos da Cerilliant Corporation (EUA). Cada padrão foi submetido a diluições sucessivas em metanol para obtenção das soluções de trabalho na concentração de 1,0 µg.mL⁻¹.

Desenho do Experimento

O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição que assistia os usuários. Os pacientes consumidores de *Cannabis* internados e os assistidos no ambulatório foram esclarecidos quanto ao escopo do trabalho e, posteriormente, convidados a participar de uma entrevista onde os objetivos e a metodologia da pesquisa foram apresentados. A leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi realizada com o voluntário para exposição dos riscos, benefícios, grau de sigilo, entre outros, e os interessados em participar e o pesquisador responsável assinaram o documento autorizando a coleta do material biológico.

Foi aplicado um questionário para obtenção de informações sócio-econômico e padrão de consumo da droga. Às urinas dos pacientes usuários de *Cannabis*, foi aplicado o método desenvolvido e validado para análise de THC-COOH e THC, utilizando na etapa de extração a resina de troca aniônica Dowex® Cl.

As amostras de urina foram coletadas em recipientes apropriados para acondicionamento da matriz biológica, identificados e armazenados a 4°C para envio ao Laboratório do Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB), onde foram acondicionadas em ultra freezer a temperatura de -20°C até a realização das análises.

A uma alíquota de 1 mL de urina dos pacientes foi adicionado 50 µL de solução de THC-COOH-d₃ (padrão interno 500 ng.mL⁻¹). A amostra foi submetida ao procedimento de hidrólise, pela adição de 100 µL de solução 10 N de NaOH. O sistema foi incubado, com aquecimento em banho-maria a 60 °C, por 20 minutos. Após resfriamento, às amostras foram adicionados 3 mL de solução tampão bicarbonato 0,1 M. A amostra, com pH entre 12-13, foi adicionada lentamente no cartucho contendo a resina de troca aniônica Dowex® Cl, previamente acondicionada com 1 mL de metanol e 1 mL de solução de 25 mM de formiato de amônio (pH 6-7). Após o carregamento, a resina foi submetida à lavagem rápida, com 1 mL de solução 25 mM de formiato de amônio e 1 mL de solução 25 mM de formiato de amônio/ACN (80:20, v/v). Finalizada a etapa de lavagem a resina foi seca sob vácuo por 15 minutos e eluída com 1 mL de solução

5 % (v/v) de ácido fórmico em acetonitrila, por duas vezes e 1 mL de hexano/acetato de etila (1:1 v/v). O solvente residual foi removido do sistema com auxílio de vácuo por 2 minutos e o eluato foi seco a 40 °C, sob fluxo de Nitrogênio. Após a secagem do solvente de eluição, as amostras foram ressuspendidas em 200 µL de fase móvel na condição inicial do gradiente de 50 % (v/v) fase A/fase B.

CLAE-EM/EM

O sistema cromatográfico utilizado foi um cromatógrafo líquido de alta eficiência 1200 Series Agilent Technologies (Waldbronn, Germany) acoplado a um espectrômetro de massas sequencial API 3200, AB Sciex, (Singapura); A separação foi realizada em uma coluna cromatográfica Kinetex C18, com dimensões 50 x 2,1 mm, 2,6 µm, marca Phenomenex (USA) com fluxo de 450 µL/min, volume de injeção de 3 µL e temperatura do forno da coluna de 20 °C, totalizando 10 minutos de corrida cromatográfica. Como fase móvel utilizou-se um gradiente de fase A, solução aquosa 0,1 % (v/v) de ácido fórmico e fase B, solução 0,1 % (v/v) de ácido fórmico em acetonitrila. O gradiente foi iniciado com 50 % de fase B, aumentando linearmente até 95 % em 5 minutos, quando então se iniciou a diminuição da concentração da fase B, linearmente até se alcançar 50 % em 8 minutos de análise. Esse valor foi mantido por 2 minutos para reestabilização das condições cromatográficas iniciais.

No espectrômetro de massas (EM) o monitoramento de reações múltiplas (MRM) foi realizado em dois períodos. No primeiro período de tempo, de 0,0 a 3,5 minutos, o EM operou no modo negativo para análise do THC-COOH. Os parâmetros de fonte utilizados nesse período foram: temperatura do gás de secagem a 700 °C; voltagem do capilar de ionização -4500,00 V; pressão do gás 1 (N₂) 50 psi; pressão do gás de secagem (N₂) 40 psi; pressão do gás *curtain* (N₂) 12 psi; Pressão do gás DAC (N₂) 3 psi; PD -55,00 V; PE -7,50 V e pressão do CXP 3,0 psi. A voltagem do detector foi de 2300 V. No segundo período de tempo, de 3,5 a 10 minutos, o EM operou no modo positivo para determinação do THC. Os parâmetros de fonte para o período final foram: temperatura do gás de secagem 700 °C; voltagem do capilar aplicada para ionização 5500,00 V; pressão do gás 1 (N₂) 50 psi; pressão do gás de secagem (N₂) 40 psi; pressão do gás *curtain* (N₂) 12 psi; pressão do gás DAC (N₂) 3 psi; PD 61,00 V; PE 10,00 V e pressão do CXP 3,0 psi. A voltagem do detector foi de 2200 V. Os íons precursores monitorados foram: m/z 315 [314 + H]⁺ e m/z 343 [344 - H]⁻ referentes ao THC e THC-COOH, respectivamente. Para o MRM utilizou-se transições apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1: Precursor e íons produto e suas respectivas energias de colisão (EC).

Identificação	Peso Molecular	Transição		EC
		Massa Q1 (Da)	Massa Q3 (Da)	
THC-COOH 1	344	343,0 [M-H] ⁻	245,0	-34
THC-COOH 2			299,0	-15,07
THC-COOH 3			191,0	-26,50
THC 1	315	315,0 [M+H] ⁺	193,0	31
THC 2			123,0	37
THC 3			93,0	33

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo obteve um total de 27 participantes, porém, apenas 21 amostras de urina foram colhidas. Apesar de não oferecer resistência verbal à coleta, os pacientes apresentaram justificativas para não realizá-la, como sono, falta de vontade de urinar, etc. A amostra era coletada

pelo próprio voluntário em frasco fornecido no momento da entrevista. Não foi observada a necessidade de realização de coleta assistida, visto que, a utilização dos espécimes biológicos tinha o objetivo principal de aplicação da metodologia desenvolvida, sem implicações forenses que justificassem a aplicação desse procedimento.

O levantamento dos dados fornecidos, através da análise do questionário aplicado, evidenciou o consumo de álcool em 79,3% dos entrevistados, representados em sua maioria por homens (62,9%). A faixa etária entre os usuários era de 38,22 (*desvio padrão*=11,7 anos) e 81,48 % dos indivíduos se declararam brancos, com renda familiar entre 0 e 4 salários mínimos. O perfil dos voluntários é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Descrição do perfil sócio econômico dos indivíduos entrevistados.

IDADE, ANOS: MÉDIA (D.P)	38,33 (11,7)
GÊNERO (%)	
HOMENS	62,9
MULHERES	37,03
ETNICIDADE (%)	
BRANCOS	81,48
NEGROS	11,11
PARDOS	7,41
RENDA FAMILIAR EM SALÁRIOS MÍNIMOS (%)	
0 a 1	29,63
1 a 3	33,3
3 ou mais	7,41
Não informaram	29,63
VÍNCULO HOSPITALAR (%)	
INTERNADOS	77,7
AMBULATORIO	32,3
BEBIDA ALCOOLICA (%)	79,3

*N = 27 indivíduos.

Apesar de tratar-se da droga mais consumida no mundo,¹ os voluntários assistidos neste hospital psiquiátrico não tratavam da dependência de *Cannabis*, mas sim, de outras drogas, em especial o álcool e a cocaína, definindo um padrão de poliusuário para o consumo de drogas, conforme ilustrado no Gráfico 1.

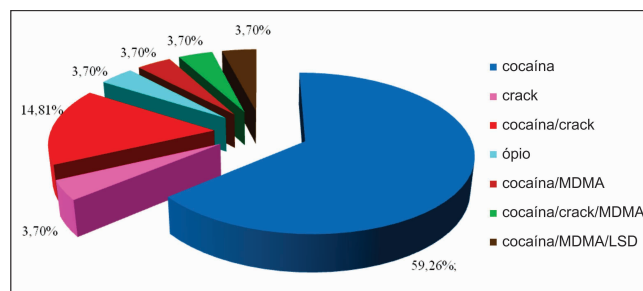


Gráfico 1: Drogas consumidas entre os usuários de Cannabis entrevistados.

No Brasil, em 1998, já era sinalizada uma redução no número de internações relacionadas à dependência de *Cannabis*, de 83% em 1991 para 39% em 1998.⁶ Apesar de um terço dos usuários de maconha apresentar dependência da droga,⁷ não existem dados estatísticos que subsidiem a real situação relacionada ao tratamento da dependência da *Cannabis* no Brasil e, isso provavelmente, está associado às modificações do padrão de consumo pela oferta de outras substâncias com grande potencial destrutivo, que têm merecido maior atenção das autoridades, a exemplo da cocaína e, em especial, o *crack*.

Em 33% dos pacientes, o THC-COOH foi detectado acima de 15 ng.mL⁻¹, valor de corte estabelecido por SAMSHA, e 23,8% apresentaram resultados abaixo do valor de corte, porém, dentro do limite de detecção calculado para o método de 3,25 ng.mL⁻¹. Dos pacientes que apresentaram valores de THC-COOH urinários acima de 50 ng.mL⁻¹, 50% deles estavam em regime ambulatorial de acompanhamento, portanto, continuavam consumindo a droga, justificando os altos níveis do metabólito. Os resultados são apresentados no Quadro 2.

Quadro 2: Auto-relato dos usuários versus os níveis de THC-COOH urinários dos voluntários.

Identificação	Idade	Quantidade e frequência de consumo	Internado	Quantidade consumida e tempo do último consumo antes da coleta de urina	THC-COOH urinários (ng.mL ⁻¹) ^a
KM0408112012	25	1xdia	Sim	Não soube responder	ND
CKM0108112012	20	3xdia	Sim	Não soube responder	3,50
CM0604102012	24	12 a 15xdia	Sim	12-15 cigarros. Há dois dias	15,53
M0105062012	51	2 a 3xdia	Não	2 a 3 a x dia	977,89
MC0115082012	47	3 a 4xdia	Sim	3a 4 vezes. Último uso não respondeu	65,02
MC0326072012	42	2 a 3xdia	Sim	2 A 3 vezes por dia ao acordar e dormir. Último uso não respondeu	?1000
CM0426072012	22	4xdia	Sim	4x dia	131,39
CKM0112062012	30	2xdia	Não	Diariamente a 1 mês atrás. último mês não usou. Consumiu a 1 dia atrás	22,71
CM0719072012	26	3xdia	Sim	Último uso não soube responder	12,57
MC0219072012	50	1 xdia	Sim	Último uso não soube responder	ND
M1002082012	48	1x dias alternados	Sim	3xsemana	49,63
CM0218102012	54	0,5xdia	Sim	Somente 1/2 cigarro por dia alguns tragos. Último uso a 3 dias	14,73
CM0418102012	44	1xdia	Sim	Último uso a 7 dias.	ND
CMK0318102012	32	2x semanal	Sim	Menos de 1x por semana/ último uso a uma semana	ND
CM0209082012	47	4xdia	Sim	4 ou mais vezes. Último uso a 2 dias	10,04
CM0109082012	34	20xdia	Sim	20X diária. Último uso não soube responder	13,56
CM0102082012	55	1x semana	Não	1 mês atrás. 1 cigarro	102,93
CM0211102012	19	2xsemanal	Sim	Finais de semana 2 cigarros	ND
CM0511102012	27	2xdia	Não	Não soube responder	ND
CM0111102012	24	1xdia	Sim	Não soube responder	ND
CKM0202082012	45	1xdia	Sim	Não soube responder	ND

^aND=Não detectado.

Alguns voluntários que reportavam consumo diário, em média de 2 cigarros, apresentaram valores urinários de THC-COOH abaixo do valor de corte preconizado por SAMSHA. Na prática, a intermitência de eliminação do THC-COOH na urina dos voluntários em abstinência e, conforme esperado, não segue um padrão definido. A janela de detecção do principal metabólito do THC varia em aproximadamente 3 dias, podendo chegar a semanas, e ainda flutua entre resultados positivos e negativos durante o período de interrupção do consumo da droga.⁸⁻⁹ Muitas dessas diferenças, provavelmente, estão relacionadas à grande variabilidade interindividual, dose consumida, periodicidade, condições de hidratação do indivíduo e a dificuldade de se obter informações mais fidedignas de consumo que podem esbarrar em questões éticas.

Na Figura 1 é apresentado o cromatograma de uma análise de urina proveniente de usuário de *Cannabis*, onde só foi constatada a presença do THC-COOH. Entretanto, o THC não foi detectado nas amostras dos voluntários, contudo, este era um resultado esperado, pois a presença desta substância é um indicativo de consumo muito recente da droga, detectável por até 5 horas nesta matriz biológica.⁵ Como 80,9% dos pacientes estavam em regime de internato, portanto em abstinência, a possibilidade da detecção do THC era improvável.

A utilização da urina, uma matriz universalmente aceita para análise de drogas, exibe para os canabinóides uma janela de detecção longa, quando comparada as outras substâncias ilícitas. O THC, devido suas características lipofílicas, na ocasião da abstinência, é liberado para a corrente sanguínea dos compartimentos de depósito corporal, em especial, o tecido adiposo, e excretado na urina, como THC-COOH, de maneira intermitente, por até semanas.⁹ Dessa forma, o monitoramento seriado é necessário para avaliar a excreção do principal metabólito do THC, ampliando sua janela de detecção.

A tomada de uma única amostra de urina não pôde refletir o real perfil de eliminação do THC, através da excreção do seu principal metabólito. Concentrações de THC-COOH abaixo do valor de corte, durante a abstinência, foram observadas e são esperadas, de acordo com os dados da literatura.⁹ Apesar do inconveniente, o monitoramento seriado, passa a ser uma prerrogativa para utilização da urina como matriz biológica que exibe uma longa janela de para o consumo de THC.

O valor de corte é estabelecido com a finalidade de evitar a ocorrência de falsos resultados positivos provenientes da inalação passiva à fumaça.³ Não existem diretrizes brasileiras que definam critérios como valores de corte em amostras de urina para análise de canabinóides, portanto, as referências são normatizações internacionais, como SAMSHA, que estabelece valores de 15 ng.mL⁻¹, como critério de aceitação de um resultado positivo. Contudo, em condições reais, a fumaça de THC é incapaz de produzir níveis na urina tipicamente observados em usuários. As concentrações máximas encontradas em indivíduos não usuários expostos foram de 7,8 ng.mL⁻¹ e 7.3 ng.mL⁻¹, em 6 e 14 horas, respectivamente.¹⁰

Preparações da droga com altos teores de THC, como a *sinsemilla*, estão disponíveis nos EUA e Europa com valores de 11,5% e 13% da substância ativa, respectivamente.¹¹⁻¹² No Brasil, não existem dados suficientes, mas estudos preliminares realizados pelo Instituto Criminalista da Capital Paulista, apontam para níveis de THC na maco-nha apreendida com teor de 5,7%, sugerindo que os produtos de alta potência ainda não chegaram ao país.¹³ Dessa forma, seguir normas internacionais para determinar valores de corte parece um contrassenso, pois a fumaça inalada nos EUA e Europa, por conter altos teores de THC, devem prever uma exposição passiva a uma maior quantidade da substância, o que não parece ser realidade no Brasil. Isso é refletido, diretamente, nos resultados obtidos dos voluntários pesquisados que reportam consumo crônico, com valores detectáveis do metabólito, porém abaixo do valor de corte preconizado por SAMSHA.

Por esta razão, faz-se necessário ampliar a discussão sobre os valores de corte utilizados no país, para o uso de *Cannabis* e suas preparações, e adequá-los a realidade através de uma investigação estruturada para avaliação do teor de THC na droga disponível ilegalmente no território brasileiro e, assim, fornecer dados que subsidiem uma proposta para alteração desses referenciais para as concentrações urinárias de THC-COOH.

A utilização do cabelo como matriz para análise de drogas tem ganhado importância nos últimos anos. Contudo, apesar das vantagens apresentadas em se trabalhar com uma amostra biológica que ofereça a possibilidade de avaliar um histórico e/ou monitoramento do consumo das substâncias interindividual,¹⁴ para os canabinóides, a análise desta matriz é controversa para provar o consumo, visto que, somente com detecção do metabólito é possível fazê-lo e este possui pequena incorporação nesta matriz, além das divergências apresentadas em resultados de cabelo negativo e urina positiva.¹⁵

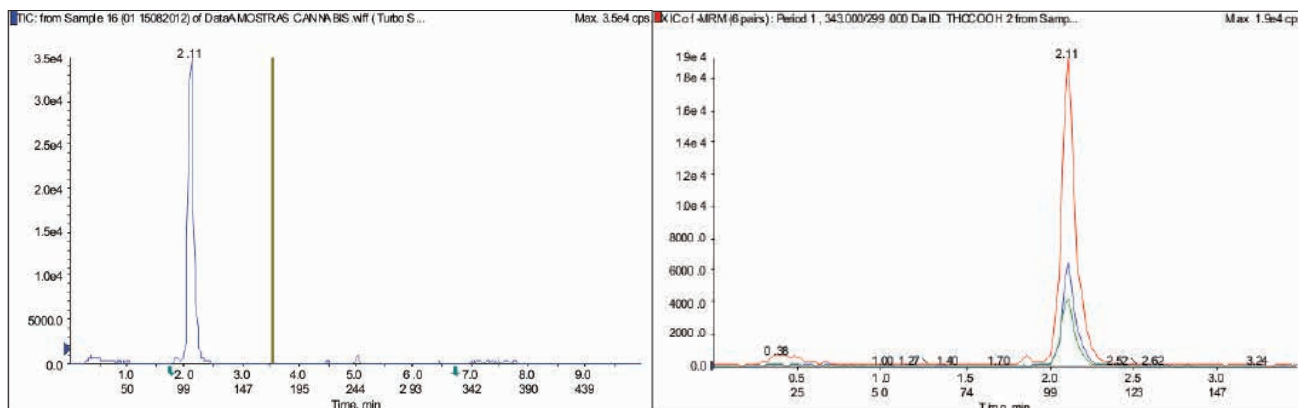


Figura 1: Cromatograma de amostra de urina de usuário de Cannabis.

CONCLUSÕES

O presente estudo permitiu traçar o perfil socioeconômico do usuário de Cannabis assistido em um hospital psiquiátrico no Rio de Janeiro e avaliação das concentrações de THC-COOH em amostras de urina dos voluntários pela aplicação de metodologia desenvolvida no IPB-HNMD.

Apesar do reduzido número de participantes, pelas dificuldades de acesso a esta população, foi possível observar o padrão intermitente de eliminação urinária da droga, confrontando os auto-relatos dos pacientes e os achados analíticos, confirmada com as informações disponíveis na literatura especializada. Desta maneira, foi possível iniciar uma discussão, mesmo incipiente, sobre os valores de corte utilizados para concentrações urinárias de THC-COOH praticados no Brasil.

A implantação do rastreamento analítico, dentro das políticas institucionais de combate às drogas, forneceriam informações mais consistentes para subsidiar uma proposta de valores de corte urinários mais adequados a realidade brasileira. Deste modo, diminuiria a vulnerabilidade dos laudos emitidos com valores de referência laboratoriais importados, auxiliaria na redução da incidência de resultados falso negativos nos programas de acompanhamento do usuário, além de contextualizar as respostas aos questionamentos relacionados à exposição à fumaça da droga.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) [Internet]. 2012 [acesso em 07 jun 2014]. Disponível em: http://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/WDR2012/WDR_2012_web_small.pdf
- 2- Musshoff F, Madea B. Review of biologic matrices (urine, blood, hair) as indicators of recent or ongoing cannabis use. *Drug Monit*. 2006;28(2):155-63.
- 3- Brenneisen R, Meyer P, Chtioui H, Saugy M, Kamber M. Plasma and urine profiles of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and its metabolites 11-hydroxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol and 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol after cannabis smoking by male volunteers to estimate recent consumption by athletes. *Anal Bioanal Chem*. 2010 Apr;396(7):2493-502.
- 4- Grotenherme F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(4):327-60.
- 5- Manno JE, Manno BR, Kemp PM, Alford DD, Abukhalaf IK, Williams ME et al. Temporal indication of marijuana use can be estimated from plasma and urine concentrations of Δ^9 -tetrahydrocannabinol, 11-hydroxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol, and 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid. *J Anal Toxicol*. 2001;25(7):538-49.
- 6- Passos SRL, Camacho LAB. Características da clientela de um centro de tratamento para dependência de drogas. *Rev Saúde Pública*. 1998;32(1):64-71.

7- II LENAD - o perfil dos usuários de maconha no Brasil no ano de 2012 [Internet]. São Paulo: Unidade de Pesquisa em Álcool e Drogas; 2012 [acesso em 07 jun 2014]. Disponível em: <http://inpad.org.br/lenad/>

8- Smith-Kielland AS, Skuterud BM, Briand J. Urinary excretion of 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabinoids in frequent and infrequent drug users. *J Anal Toxicol*. 1999;23(5):325-32.

9- Goodwin RS, Darwin WD, Chiang CN, Shih M, Shou-Hua LS, Huestis MA. Urinary elimination of 11-Nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol in cannabis users during continuously monitored abstinence. *J Anal Toxicol*. 2008;32(8):562-9.

10- Röhrich J, Schimmel I, Zörntlein S, Becker J, Drobnik S, Kaufmann T et al. Concentrations of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol in blood and urine after passive exposure to cannabis smoke in a coffee shop. *J Anal Toxicol*. 2010;34(4):196-203.

11- Elsohly MA, Ross SA, Mehmedic Z, Ararat R, Yi B, Banahan B F. Potency trends of Δ^9 -THC and other cannabinoids in confiscated marijuana from 1980–1997. *J Forensic Sci*. 2000 45(1):24–30.

12- Potter DJ, Clark P, Brown MB. Potency of Δ^9 -THC and other cannabinoids in cannabis in England in 2005: implications for psychoactivity and pharmacology. *J Forensic Sci*. 2008;53(1): 1-5.

13- Kachani M. Maconha vendida em São Paulo está mais potente, indica estudo. Folha de São Paulo, 12 nov 2012. Cotidiano [acesso em 07 jun 2014]. Disponível em: <http://www1.folha.uol.com.br/fsp/cotidiano/77634-maconha-vendida-em-sao-paulo-esta-mais-potente-indica-estudo.shtml>

14- Dolan K, Rouen D, Kimber J. An overview of the use of urine, hair, sweat and saliva to detect drug use. *Drug Alcohol Rev*. 2004;23(2):213-7.

15- Huestis MA, Gustafson RA, Eric T, Moolchan ET, Barnes A, Bourland JA et al. Cannabinoid concentrations in hair from documented cannabis users. *Forensic Sci Int*. 2007;169(2-3):129-36.

Como citar este artigo: Maia CS, Schulz DF, Albert ALM, Lopes RBC, Lopes CC. Avaliação da concentração urinária de tetrahydrocannabinol (THC) e seu principal metabólito na urina de usuários de Cannabis assistidos em hospital psiquiátrico no Rio de Janeiro. *Arq Bras Med Naval*. 2014 jan/dez;75(1): 32-36

EVALUATION OF URINARY CONCENTRATION OF TETRAHYDROCANNABINOL (THC) AND ITS MAIN METABOLITE IN URINE OF *CANNABIS* USERS ASSISTED IN PSYCHIATRIC HOSPITAL IN RIO DE JANEIRO

Received on 07/11/2014

Accepted for publication on 08/11/2014

CT (S) Carla Sales Maia¹
1T (S) Daniel Filisberto Schulz²
André Luís Mazzei Albert³
Rosângela Sabbatini Capella Lopes⁴
Cláudio Cerqueira Lopes⁵

ABSTRACT

Cannabis remains the most widely consumed drug of abuse in the world. With annual prevalence of consumption between 2.6 and 5.0 %, that represents an estimated consuming population of 119 to 224 million. The reasons for determining the use of drugs of abuse is embedded in forensics, detection and monitoring of consumption in the work environment, and as a tool for health professionals in monitoring the treatment of chemically dependent people. This work presents the evaluation of the levels of the drug excreted in urine using an analytical methodology developed for the simultaneous and fast investigation of the presence of tetrahydrocannabinol (THC) and its major metabolite, 11-nor-9-carboxy-delta-9-tetrahydrocannabinol (THC-COOH), in urine of drug users, using anion exchange resin anionic Dowex® and liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Starting from the implementation of socio-economic survey found a pattern of multiple drugs users among those interviewed with a mean age of 38.22 years and earning up to four times the minimum wage. In 33% of patients, THC-COOH was detected above the cutoff value established by American guidelines. The results allowed to profile the user assisted in the health and evaluate urinary concentrations of the metabolite in the participating volunteers. The results allowed starting a discussion about urinary metabolite concentrations in patients on abstinence and the cutoff values practiced in this country.

Key-words: *Cannabis*; Dronabinol/analogs & derivatives, Chromatography, Liquid; Ion Exchange Resins.

INTRODUCTION

Approximately 6.6% of worldwide population, with age between 15 and 64 years, have already used some kind of illicit drug. Toxic dependency implies in negative consequences both to the chemical dependent and the society. The impact of consumption, in monetary terms, seems to be substantial, which may input a heavy financial burden to the society, in figures around US\$ 200 to 250 billion, around 0.3 to 0.4% of global domestic product. However, only one in each five users that need treatment by drug abuse effectively receives it. It is estimated that 99.000 to 253.000 deaths in the world, in 2010, were associated to drug consumption. The *Cannabis* and its preparations continue to be the most consumed drug in the world. Some data from 2010 point out for an estimated prevalence of 2.6 to 5.0% of adult population which is consumer of the herb, representing from 119 to 224 million users. Most common preparations which are used are the popular marijuana and resin, also known as hashish.¹

¹Pharmacist. Responsible for Research Division of the Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) of Hospital Naval Marcílio Dias. E-mail: carla.maia@hnmd.mar.mil.br

²Pharmacist. Responsible for Bioanalysis Laboratory of the Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) of Hospital Naval Marcílio Dias. E-mail: schulz@hnmd.mar.mil.br

³Chemical Engineer. Fundação Oswaldo Cruz. E-mail: andre.mazzei@incqs.fiocruz.br

⁴Pharmacist. Universidade Federal do Rio de Janeiro. E-mail: sabbatini@iq.ufrj.br

⁵Pharmacist. Universidade Federal do Rio de Janeiro. E-mail: claudioc@iq.ufrj.br

Governments, private companies and other organizations have implanted a strict program to discourage the use of the drug and to follow-up abstinence cases. Implications include loss of employment, driver's license, fines and arresting.² The psychoactive substance of *Cannabis*, the tetrahydrocannabinol (THC), is also included in the list of prohibited substances of the World Anti-Doping Agency, by its irrefutable damage to the health of athletes.³

The detection of *Cannabis* use depends on, primarily, the use which was used, sensitivity of analysis methods, form of drug preparation, administration way, duration of use (acute or chronic), matrix selected for analysis, pH and inter-individual variations of metabolism. The high lipophilicity of THC and its affinity by fabrics, especially to adipose tissue, changes all the time its distribution pattern. THC quickly penetrates in vascularized tissues, among them: liver, heart, kidneys, lungs, mammary glands, placenta, muscles, among others, showing low plasma levels. THC suffers a high tubular reabsorption resulting in low concentrations of this substance in urine, however, 20 to 35% of THC is eliminated, specially, as inactive metabolite 11-nor-9-carboxi- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC-COOH) that, conjugated with glucuronic acid, has been identified as major product of biotransformation in many species, including the human being.⁴

Substance Abuse & Mental Health Services Administration (SAMSHA) recommends a cut value of 15 ng.mL⁻¹ of THC-COOH in urine for a result to be considered as positive for use of cannabinoids. In urine, THC-COOH is not monotonously eliminated and its concentration may fluctuate, which results in achievement of positive or negative results for some days, depending on the period in which collection was performed. THC may also be detected in urine and its presence indicates the recent consumption of *Cannabis* preparations, evidenced in controlled studies with volunteers receiving doses known as TCH, that this substance is detected in the first 5 hours after consumption of the drug.⁵

Normally, the immunoassays are performed in preliminary basis in drug analysis programs, however, as a function of its low specificity, such tests may generate false-positive or false-negative results, which requires the use of confirmatory techniques such as chromatography, preferably coupled to mass spectrometry, for unequivocal identification,² in view of legal matters of health and social which be linked to release of report with positive result for the presence of drug.

The proposal of this work is to evaluate the concentrations of THC and THC-COOH in urine of patients users of *Cannabis* in a psychiatric hospital in Rio de Janeiro, seeking to set out a parallel between information from volunteers and laboratory finding, correlating with pharmacokinetics information of the drug. The applied analytical method, developed in the Instituto de Pesquisas Biomédicas do Hospital Naval Marcílio Dias (HNMD), for concurrent analysis of THC and its inactive acid metabolite, THC-COOH, using a resin of anion exchange in the extraction process followed by analysis by liquid chromatography of high frequency coupled with serial mass spectrometry (LS-MS/MS).

METHOD

Reagents

Sodium hydroxide, sodium carbonate, formic acid, ammonium formate, resin Dowex® Cl 1x8 200-400 mesh and ethyl acetate were obtained

from Sigma Aldrich (St. Louis, USA); sodium bicarbonate, acetonitrile HPLC and hexane were obtained from J.T. Baker (USA); methanol HPLC from J.T. Baker (México), and chloridric acid from MACRON. Water used in analysis was obtained from ultra purifier system GEHAKA. Nitrogen gas was furnished by Air Liquid (Brazil).

Standards

Certified standards of THC (1.0 mg.mL⁻¹), THC-COOH (100.0 µg.mL⁻¹) and internal standard THC-COOH-d3 (100 µg.mL⁻¹) were obtained from Cerilliant Corporation (EUA). Each standard was submitted to successive dilutions in methanol for achievement of work solutions in concentration of 1.0 µg.mL⁻¹.

Experiment Design

The research project was submitted and approved by the Research Ethics Committee of the Institution which assisted the users. Consumers of *Cannabis* who were hospitalized and submitted in outpatient clinics were informed about the scope of work and, afterwards, invited to participate of an interview where the objectives and research methodology were presented. The TCLE (Free and Clarified Consent) reading was performed with a volunteer for explanation of risks, benefits, degree of confidentiality, among other, and interested participants and responsible researcher signed the document authorizing the collection of biological material.

It was applied a questionnaire for achievement of socio-economic information and consumption standard of the drug. Urine of *Cannabis* users was subject to application of method developed and validated for analysis of THC-COOH and TCH, using in the extraction stage the anion exchange resin Dowex® Cl.

Urine samples were collected in proper recipients for packaging of biological matrix, identified and stored in 4°C for submission to Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) Laboratory, where they were packed in ultra freezer in temperature of -20°C up to the performance of analysis.

To rate of 1ml of patient urine, it was added 50 µL of THC-COOH-d³ solution (internal standard 500 ng.mL⁻¹). The sample was submitted to hydrolysis procedure, by addition of 100 µL of solution 10 N of NaOH. The system was incubated in water bath at 60°C, for 20 minutes. After the cooling, samples were added with 3 mL of bicarbonate buffer solution 0.1 M. The sample, with pH between 12-13, was slowly added in the cartridge containing the anion exchange resin Dowex® Cl, previously added with 1 mL of methanol and 1 mL of solution of 25 mM ammonium formate (pH 6-7). After loading, the resin was submitted to quick flushing, with 1mL of solution 25 mM of ammonium formate and 1mL of solution 25 mM of ammonium formate/ACN (80:20, v/v). After the end of flushing stage, the resin was dried under vacuum for 15 minutes and fractionated with 1mL of 5 % (v/v) formic acid solution acetonitrile, for two times and 1 mL hexane/ethyl acetate (1:1 v/v). Residual solvent was removed from the system with support of vacuum for 2 minutes and eluate was dried at 40°C, under flux of Nitrogen. After drying of fractioning solvent, the samples was re-suspended in 200 µL of moveable phase in the initial condition of gradient of 50 % (v/v) phase A/phase B.

CLAE-EM/EM

Chromatography was carried out by a high efficiency liquid chromatography system 1200 Series Agilent Technologies (Waldbronn, Germany)

coupled to a sequential mass spectrometer API 3200, AB Sciex, (Singapore); The separation was performed in a chromatographic column Kinetex C18, with size 50 x 2,1 mm, 2,6 µm, brand Phenomenex (USA) with flux of 450 µL/min, injection volume of 3 µL and furnace temperature of the column in 20 °C, totalizing 10 minutes of chromatographic running. It was used a gradient of phase A in the moveable phase, water solution 0.1 % (v/v) of formic acid and phase B, solution 0.1 % (v/v) of formic acid in acetonitrile. The gradient was initiated with 50% of phase B, linearly increasing up to 95% in 5 minutes, when it was started the decrease of concentration of phase B, linearly up to reaching 50% in 8 minutes of analysis. This value was maintained for 2 minutes until re-stabilization of initial chromatographic conditions.

In mass spectrometer (MS), the multiple reaction monitoring (MRM) was performed in two periods. In the first period of time, from 0.0 to 3.5 minutes, the MS operated in negative mode for analysis of THC-COOH. The source parameters used in this period were: temperature of drying gas in 700°C; voltage of ionization capillar -4500.00 V; gas pressure 1 (N2) 50 psi; pressure of drying gas (N2) 40 psi; pressure of curtain gas (N2) 12 psi; Pressure of DAC gas (N2) 3 psi; PD -55.00 V; PE -7.50 V and pressure of CXP 3.0 psi. The detector voltage was 2300 V. In the second period of time, from 3.5 to 10 minutes, the MS operated in positive mode for ascertainment of THC. The source parameters for the final period were: temperature of drying gas in 700°C; voltage of capillar applied for ionization 5500.00 V; gas pressure 1 (N2) 50 psi; pressure of drying gas (N2) 40 psi; pressure of curtain gas (N2) 12 psi; Pressure of DAC gas (N2) 3 psi; PD 61.00 V; PE 10.00 V and pressure of CXP 3.0 psi. The voltage of detector was 2200 V. The precursor ions that were monitored were: m/z 315 [314 + H]⁺ e m/z 343 [344 - H]⁻ referring to THC and THC-COOH, respectively. To the RMR, is was used transitions presented in the Frame 1.

Identification	Molecular Weight	Transition		EC
		Mass Q1 (Da)	Mass Q3 (Da)	
THC-COOH 1	344	343.0 [M-H] ⁻	245.0	-34
THC-COOH 2			299.0	-15.07
THC-COOH 3			191.0	-26.50
THC 1	315	315.0 [M+H] ⁺	193.0	31
THC 2			123.0	37
THC 3			93.0	33

Frame 1: Precursors and ions product and its respective energy of collision (EC).

RESULTS AND DISCUSSION

The study obtained a total of 27 participants, however, only 21 urine samples were collected. In spite of not presenting verbal resistance to collection, the patients presented justifications for the non-performance, with sleep, absence of will to urinate, etc. The sample was collected by the volunteer in a flask furnished at the time of interview. It was no observed the need to perform assisted collection, in view that, the use of biological specimens had the main objective of application of developed methodology, without forensic implications which could justify the application of this procedure.

The survey of furnished data, by analyzing the applied questionnaire, evidenced the consumption of alcohol in 79.3% of the interviewed, represented in the majority by men (62.9%). Age range between users was about 38.22 (standard deviation = 11.7 years) and 81.48% of individuals decla-

red themselves as white, with family income between 0 and 4 minimum salaries. The profile of volunteers is presented in the Table 1.

Table 1: Description of socio-economic profile of interviewed individuals.

AGE, YEARS: AVERAGE (D.P)	38.33 (11.7)
GENDER (%)	
MEN	62.9
WOMEN	37.03
ETHNICITY (%)	
WHITE	81.48
BLACK	11.11
PARDOS	7.41
FAMILY INCOME IN MINIMUM SALARIES (%)	
0 to 1	29.63
1 to 3	33.3
3 or more	7.41
Without information	29.63
HOSPITAL RELATION (%)	
HOSPITALIZED	77.7
OUTPATIENT CLINIC	32.3
ALCOHOLIC BEVERAGE (%)	79.3

*N = 27 individuals.

In spite of being the most consumed drug in the world,¹ the assisted volunteers in this psychiatric hospital did not treated of *Cannabis* dependency, but treated other drugs, specially alcohol and cocaine, defining a standard of poli-users for drug consumption, as illustrated in Chart 1.

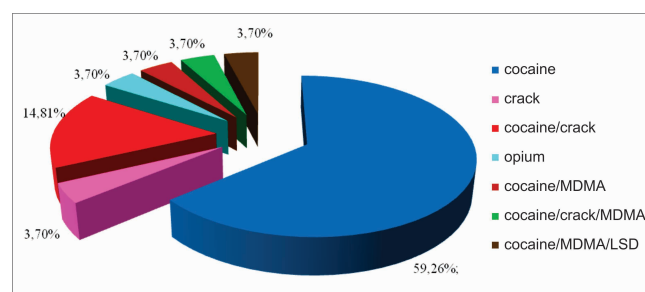


Chart 1: Drugs consumed among interviewed Cannabis users.

In Brazil, in 1998, it was already signaled a reduction in the number of hospitalizations related to dependency of *Cannabis*, from 83% in 1991 to 39% in 1998.⁶ In spite of one third of marijuana users is presenting drug dependency,⁷ there is no statistical data which subsidize the real situation related to the treatment of *Cannabis* dependency in Brazil and, probably, it is associated to modifications of consumption standard by offer of other substances with large destructive potential, which deserves more attention of authorities, for instance, in relation to cocaine and, particularly, the crack.

In 33% of the patients, the THC-COOH was detected above 15ng.mL⁻¹, cut value established by SAMSHA, and 23.8% presented results below the cut value, however, within the detection limit calculated for the method of 3.25ng.mL⁻¹. Among patients which presented values of urinary THC-COOH above 50ng.mL⁻¹, 50% of them were in outpatient regime of follow-up, then, they continued with drug consumption, justifying the high levels of the metabolite. The results are given in Frame 2.

Some volunteers who reported daily consumption on average of 2 cigarettes had urinary values of THC-COOH below the recommended cut value by SAMSHA. In practice, the intermittency of elimination of THC-COOH in urine of volunteers in abstinence and, as expected, does not follow a set pattern. The detection window of the major metabolite of THC varies in approximately 3 days, reaching up to weeks, and still fluctuates between positive and negative results during the interruption period of drug consumption.^{8,9} Many of these differences are probably related to the large

inter-individual variability, dose consumed, frequency, hydration status of the individual and the difficulty of obtaining more reliable information about consumption that can run into ethical issues.

Frame 2: Self-report of users versus urinary THC-COOH levels in volunteers.

Identification	Age	Quantity and frequency of consumption	Hospitalized	Quantity consumed and time of last consumption before urine collection	Urinary THC-COOH (ng.mL ⁻¹)*
KM0408112012	25	1xday	Yes	Did not know how to answer	ND
CKM0108112012	20	3xday	Yes	Did not know how to answer	3.50
CM0604102012	24	12 to 15xday	Yes	12-15 cigarettes. Two days ago	15.53
M0105062012	51	2 to 3xday	No	2 to 3 a x day	977.89
MC0115082012	47	3 to 4xday	Yes	3 to 4 times. Last use did not answer	65.02
MC0326072012	42	2 to 3xday	Yes	2 TO 3 times a day, when get up and go to sleep. Last use did not answer	?1000
CM0426072012	22	4xday	Yes	4x day	131.39
CKM0112062012	30	2xday	No	Daily 1 month ago. Did not use on last month. Consumed 1 day ago.	22.71
CM0719072012	26	3xday	Yes	Last use did not know how to answer	12.57
MC0219072012	50	1 xday	Yes	Last use did not know how to answer	ND
M1002082012	48	1x alternate days	Yes	3xweek	49,63
CM0218102012	54	0.5xday	Yes	Only 1/2 cigarette per day - some puff. Last use 3 days ago	14,73
CM0418102012	44	1xday	Yes	Last use 7 days ago	ND
CMK0318102012	32	2x weekly	Yes	Less than 1x per week / last use one week ago	ND
CM0209082012	47	4xday	Yes	4 or more times. Last use 2 days ago	10,04
CM0109082012	34	20xday	Yes	20X daily. Last use did not know how to answer	13.56
CM0102082012	55	1x week	No	1 month ago. 1 cigarette	102.93
CM0211102012	19	2xweekly	Yes	Weekends 2 cigarettes	ND
CM0511102012	27	2xday	No	Did not know how to answer	ND
CM0111102012	24	1xday	Yes	Did not know how to answer	ND
CKM0202082012	45	1xday	Yes	Did not know how to answer	ND

*ND = Not detected.

Figure 1 shows the chromatogram of a urine analysis from user of *Cannabis*, which was only detected the presence of THC-COOH. However, THC was not detected in samples of volunteers, however, this was an expected result, since the presence of this substance is indicative of very recent drug use, detectable for up to five hours in this biological matrix.⁵ As 80.9% patients were in hospitalization regime, therefore, in abstinence, the possibility of detection of THC was unlikely.

The use of urine, a matrix universally accepted for drug analysis, displays a window of long detection for cannabinoids, when compared to the other illicit substances. Because of its lipophilic characteristics at the time of abstinence, THC is released into the bloodstream of compartments of the body deposit, especially adipose tissue and excreted into urine, as THC-COOH, intermittently, for up to weeks.⁹ Thus, sequential monitoring is necessary to evaluate the excretion of the key metabolite of THC, increasing its detection window.

Taking a single urine sample might not reflect the actual elimination profile of THC, through excretion of its major metabolite. THC-COOH concentrations below the cut value, during abstinence, were observed and are expected, according to the literature.⁹ Despite the inconvenience, sequential monitoring becomes a prerogative for use of urine as a biological matrix displaying a long window for consumption of THC.

The cut value is established in order to avoid the occurrence of false

positive results from the passive inhalation of smoke.³ There are no Brazilian guidelines defining criteria such as cut values in urine samples for analysis of cannabinoids, so the references are international norms, as SAMSHA, establishing values of 15ng.mL⁻¹, as criteria for acceptance of a positive result. However, in real conditions, the smoke of THC is unable to produce levels in urine typically observed in users. The maximum concentrations found in individuals which are not exposed users were 7,8ng.mL⁻¹ and 7.3ng.mL⁻¹, in 6 and 14 hours, respectively.¹⁰

Drug preparations with high content of THC, such as sinsemilla, are available in the USA and Europe with values of 11.5% and 13% of the active substance, respectively.¹¹⁻¹² In Brazil, there are insufficient data, but preliminary studies by the Instituto Criminalista da Capital Paulista, indicate levels of THC in marijuana seized with a content of 5.7%, suggesting that the products of high-power have not reached the country yet.¹³ Thus, following international standards to determine cut values seems to be counter-intuitive, because the smoke inhaled in the USA and Europe, containing high levels of THC, should provide a passive exposure to a larger quantity of the substance, which do not appears to be reality in Brazil. This is reflected directly in the results of surveyed volunteers who report chronic consumption, with detectable amounts of the metabolite, but below the recommended cut value by SAMSHA.

For this reason, it is necessary to enlarge the discussion on the cut values used in the country for the use of *Cannabis* and its preparations, and adjust them to reality through a structured investigation to establish the content of THC in the drug illegally available in Brazilian territory, and thus, provide data that support a proposal to change these references to the urinary concentrations of THC-COOH.

The use of hair as a matrix for drug analysis has gained importance in recent years. However, despite of the advantages presented in working with a biological sample that offers the possibility to evaluate historical and / or monitoring the consumption of inter-individual substances interindividuo,¹⁴ for cannabinoids, the analysis of this matrix is controversial to prove this consumption, since only with detection of the metabolite it is possible to do so, and it has little incorporation in this matrix, besides the differences presented in results of negative hair and positive urine.¹⁵

CONCLUSIONS

This study permitted us to trace the socioeconomic profile of the *Cannabis* user assisted in a psychiatric hospital in Rio de Janeiro and assessment of concentrations of THC-COOH in urine samples of volunteers by applying the methodology developed in IPB-HNMD.

Despite the small number of participants, the difficulties to access this population, it was possible to observe the intermittent standard of urinary elimination of the drug, comparing the self-reports of the patients and the analytical findings, confirmed with the information available in the specialized literature. Thus, it was possible to start a discussion, even incipient, on the cut values used for urinary concentrations of THC-COOH practiced in Brazil.

The implementation of the analytical screening within the institutional policies against drugs would provide more consistent information to support a more appropriate proposal of urinary cut values to the Brazilian reality. Thus, it would diminish the vulnerability of reports issued with imported laboratory reference values, would help in reducing the incidence of false negative results in the user accompanying programs, and would contextualize the answers to questions related to exposure to drug smoke.

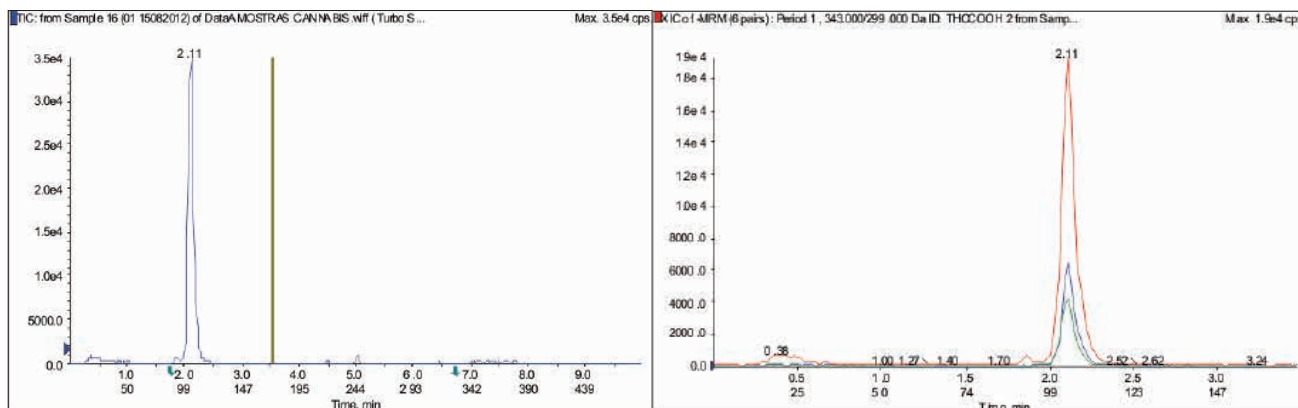


Figure 1: Urine sample chromatogram of Cannabis user.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 1- United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) [Internet]. 2012 [acesso em 07 jun 2014]. Disponível em: http://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/WDR2012/WDR_2012_web_small.pdf
- 2- Musshoff F, Madea B. Review of biologic matrices (urine, blood, hair) as indicators of recent or ongoing cannabis use. *Drug Monit.* 2006;28(2):155-63.
- 3- Brenneisen R, Meyer P, Chtioui H, Saugy M, Kamber M. Plasma and urine profiles of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and its metabolites 11-hydroxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol and 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol after cannabis smoking by male volunteers to estimate recent consumption by athletes. *Anal Bioanal Chem.* 2010 Apr;396(7):2493-502.
- 4- Grotenherme F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clin Pharmacokinet.* 2003;42(4):327-60.
- 5- Manno JE, Manno BR, Kemp PM, Alford DD, Abukhalaf IK, Williams ME et al. Temporal indication of marijuana use can be estimated from plasma and urine concentrations of Δ^9 -tetrahydrocannabinol, 11-hydroxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol, and 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid. *J Anal Toxicol.* 2001;25(7):538-49.
- 6- Passos SRL, Camacho LAB. Características da clientela de um centro de tratamento para dependência de drogas. *Rev Saúde Pública.* 1998;32(1):64-71.
- 7- Il LENAD - o perfil dos usuários de maconha no Brasil no ano de 2012 [Internet]. São Paulo: Unidade de Pesquisa em Álcool e Drogas; 2012 [acesso em 07 jun 2014]. Disponível em: <http://inpad.org.br/lenad/>
- 8- Smith-Kielland, AS, Skuterud BM, Briland J. Urinary excretion of 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabinoids in frequent and infrequent drug users. *J Anal Toxicol.* 1999;23(5):325-32.
- 9- Goodwin RS, Darwin WD, Chiang CN, Shih M, Shou-Hua LS, Huestis MA. Urinary elimination of 11-Nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol in *Cannabis* users during continuously monitored abstinence. *J Anal Toxicol.* 2008;32(8):562-9.
- 10- Röhrich J, Schimmel I, Zörtlein S, Becker J, Drobnik S, Kaufmann T et al. Concentrations of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and 11-nor-9-carboxytetrahydrocannabinol in blood and urine after passive exposure to cannabis smoke in a coffee shop. *J Anal Toxicol.* 2010;34(4):196-203.
- 11- Elsohly MA, Ross SA, Mehmedic Z, Arafat R, Yi B, Banahan B F. Potency trends of Δ^9 -THC and other cannabinoids in confiscated marijuana from 1980–1997. *J Forensic Sci.* 2000 45(1):24–30.
- 12- Potter DJ, Clark P, Brown MB. Potency of Δ^9 -THC and other cannabinoids in cannabis in England in 2005: implications for psychoactivity and pharmacology. *J Forensic Sci.* 2008;53(1): 1-5.
- 13- Kachani M. Maconha vendida em São Paulo está mais potente, indica estudo. Folha de São Paulo, 12 nov 2012. Cotidiano [acesso em 07 jun 2014]. Disponível em: Erro! A referência de hiperlink não é válida.
- 14- Dolan K, Rouen D, Kimber J. An overview of the use of urine, hair, sweat and saliva to detect drug use. *Drug Alcohol Rev.* 2004;23(2):213-7.
- 15- Huestis MA, Gustafson RA, Eric T, Moolchan ET, Bames A, Bourland JA et al. Cannabinoid concentrations in hair from documented *Cannabis* users. *Forensic Sci Int.* 2007;169(2-3):129-36.

How to cite this article: Maia CS, Schulz DF, Albert ALM, Lopes RBC, Lopes CC. Evaluation of urinary concentration of tetrahydrocannabinol (THC) and its main metabolite in urine of *Cannabis* users assisted in psychiatric hospital in Rio de Janeiro. *Arq Bras Med Naval.* 2014 jan/dez;75(1):37-41