

**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
(CEFET-MG)**

Lucas Gabriel Mendes Amorim

**DERIVATIZAÇÃO DE NOVAS SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS PARA ANÁLISES
FORENSES**

Belo Horizonte (MG)

2022

Lucas Gabriel Mendes Amorim

**DERIVATIZAÇÃO DE NOVAS SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS PARA ANÁLISES
FORENSES**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado
como requisito parcial para a obtenção do
título de Bacharel em Química Tecnológica.**

**Orientador: Prof. Dr. Cleverson Fernando
Garcia**

**Coorientadora: Prof^a. Dra. Adriana Akemi
Okuma**

Colaborador: André Dias Cavalcanti

CEFET-MG

Belo Horizonte (MG)

2022

**DERIVATIZAÇÃO DE NOVAS SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS PARA ANÁLISES
FORENSES**

**Trabalho de conclusão de curso do Bacharelado em
Química Tecnológica
CEFET-MG**

Belo Horizonte, 18 de janeiro de 2022

**Prof. Dr. Cleverson Fernando Garcia
(orientador – CEFET-MG)**

**Prof^a. Dra. Adriana Akemi Okuma
(coorientadora – CEFET-MG)**

**Prof. Dr. Ildefonso Binatti
(avaliador - CEFET-MG)**

**Prof^a. Dra. Lucienir Pains Duarte
(avaliadora – UFMG)**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família que em todo tempo esteve ao meu lado com todo apoio, mesmo muitas vezes distante de casa. A minha companheira Ana Olívia que me ajudou a superar as dificuldades apresentadas pelo trabalho, pela graduação e pela vida. Aos meus orientadores, Adriana, André e Cleverson, pela ajuda no desenvolvimento do presente trabalho e por sempre estarem dispostos a auxiliar ultrapassar cada barreira apresentada pelo trabalho e todo o aprendizado compartilhado ao longo do processo. Agradeço ao Professor Marcelo Valle da UFSJ, pelos reagentes gentilmente cedidos para elaboração do trabalho. Agradeço à Polícia Federal pelas amostras cedidas e uso do laboratório e pela oportunidade de estágio sem o qual esse trabalho nunca teria ocorrido. Agradeço a todos os meus amigos e colegas que estiveram ao meu lado por todo o percurso.

RESUMO
DERIVATIZAÇÃO DE NOVAS SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS PARA ANÁLISES
FORENSES.

AMORIM, L. G. M.; GARCIA, C. F.; OKUMA, A. A; CAVALCANTI, A.D.

O presente trabalho se destina a apresentar um método de identificação por meio da derivatização de algumas substâncias pertencentes ao grupo da fenetilaminas, as 25R-NBOH, visto que o reconhecimento inequívoco destas substâncias ainda apresenta um desafio para laboratórios forenses em todo Brasil. As amostras estudadas e o local de trabalho foram cedidos pela Polícia Federal. As análises foram realizadas utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massas de propriedade da Polícia Federal. O processo de derivatização dos compostos consistiu em uma etapa de extração dos compostos e a síntese dos derivados. A etapa de extração se deu primeiramente através do corte de 3 microsselos em tiras de 2 mm, em seguida o material foi extraído utilizando 1 mL clorofórmio por 5 minutos em ultrassom a 40 kHz, após a extração removeu-se o sobrenadante e adicionou-se 1 mL de solvente polar, empregou-se tanto metanol quanto acetonitrila, e realizou outra extração por 5 minutos em ultrassom, após isso o sobrenadante foi transferida para um vial e realizada a injeção antes e depois da adição de 20 µL de reagente derivatizante. Os reagentes empregados para a derivatização foram o anidrido acético e anidrido trifluoracético. As análises foram realizadas comparando os cromatogramas e espectros de massas das amostras antes e após adição do reagente derivatizante. Durante as análises observaram-se a formação de novos picos cromatográficos, indicando a formação de compostos derivados. Após a derivatização visando identificar os compostos obtidos realizou-se a análise de fragmentação para determinar sua identidade sendo assim possível estabelecer a formação do composto alvo. Visando otimizar o processo realizou-se um planejamento fatorial 2^{5-1} , avaliando tempo, analito, quantidade de analito, volume de reagente e solvente. Entretanto, ao realizar a avaliação dos efeitos principais observou-se que o tempo não foi uma variável significativa e buscando melhorar os resultados utilizou-se com os dados já compilados um novo planejamento fatorial 2^{4-1} excluindo assim o tempo, dessa forma obteve-se todas as variáveis significativas e assim foi possível determinar que a melhor condição para a reação é o uso de 5 microsselos, solvente metanol, 100 µL de anidrido acético, analito 25E-NBOH. Logo através dos resultados obtidos foi possível realizar a derivatização dos compostos assim como obter a melhor condição experimental para essa reação.

Palavras-chave: Derivatização. GC-MS. NSP.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura geral das Fenetilaminas	4
Figura 2 - Estrutura da 2C-R e suas variações 2C-I, 2C-B e 2C-C	4
Figura 3 - Estrutura das 25R-NBOM e 25R-NBOH e suas variações.....	5
Figura 4 - Diagrama de Blocos para um Cromatógrafo Gasoso.....	7
Figura 5 - Diagrama de blocos para um espectrômetro de massas.....	9
Figura 6 - Formação da base de Schiff	13
Figura 7 - Reagentes comuns para Sililação.....	13
Figura 8 - Amostras cedidas pela Polícia Federal para elaboração do trabalho	14
Figura 9 – Mecanismo de formação do composto monoacetilado	21
Figura 10 – Mecanismo de formação do composto diacetilado	22
Figura 11- Cromatograma da injeção pré-derivatização em metanol.....	23
Figura 12 - Cromatograma da injeção após derivatização em metanol.....	24
Figura 13 - Espectro de massas 25E-NBOH 2AC.....	25
Figura 14 - Cromatograma da injeção pré-derivatização em acetonitrila	25
Figura 15 - Cromatograma da injeção após derivatização em acetonitrila.....	26
Figura 16 - Espectro de massas para o composto 25E-NBOH 2AC	26
Figura 17 - Fragmentação proposta para o composto 25E-NBOH 2AC.....	27
Figura 18 - Cromatograma pré-derivatização em acetonitrila.....	29
Figura 19 - Cromatograma após derivatização em acetonitrila.....	29
Figura 20 - Espectro de Massas para o composto 25E-NBOH 2ATF.....	30
Figura 21 - Fragmentação proposta para o composto 25E-NBOH 2ATF.....	31
Figura 22 - Cromatograma anterior a adição do reagente derivatizante.....	32
Figura 23 - Cromatograma após a adição do reagente derivatizante.....	33
Figura 24 - Espectro de Massas 25C-NBOH 2AC obtido em meio de metanol	34
Figura 25- Cromatograma da injeção anterior a adição do reagente derivatizante	34
Figura 26 - Cromatograma da injeção após a adição do reagente derivatizante	34
Figura 27 - Espectro de massas para o composto 25C-NBOH 2AC.....	35
Figura 28 - Proposta de Fragmentação para o composto 25C-NBOH 2AC.....	36
Figura 29 - Cromatograma da amostra anterior a adição de derivatizante	37
Figura 30 - Cromatograma da amostra posterior a adição de derivatizante	37
Figura 31 - Espectro de Massas para o composto 25C-NBOH 2ATF.....	38

Figura 32 - Proposta de Fragmentação para o composto 25C-NBOH 2ATF.....	39
Figura 33 - Gráfico das médias ajustadas para a quantidade de analito	44
Figura 34 - Gráfico das médias ajustadas para o analito	45
Figura 35 - Gráfico das médias ajustadas para o volume de reagente.....	46
Figura 36 - Gráfico das médias ajustadas para o solvente.....	47
Figura 37 - Gráfico de pareto dos Efeitos Padronizados	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação de reagentes e solventes para derivatização	15
Tabela 2 - Parâmetros empregados no Método Rápido da Polícia Federal.....	17
Tabela 3 - Fatores empregados no planejamento experimental	17
Tabela 4 - Matriz codificada de ensaios do planejamento fatorial 2^{5-1} com duplicatas	18
Tabela 5 - Íons monitorados SIM Scan	19
Tabela 6- Resultados obtidos para o planejamento experimental 2^{5-1}	41
Tabela 7 - Efeitos e dados do teste de hipóteses relacionados aos fatores do planejamento experimental 2^{5-1} com duplicatas	42
Tabela 8 - Planejamento experimental 2^{4-1}	42
Tabela 9 - Efeitos e dados do teste de hipóteses relacionados aos fatores do planejamento experimental 2^{4-1} com duplicatas.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

25C-NBOH	2-([2-(4-cloro-2,5-dimetoxifenil)etil]amino)metil)fenol
25C-NBOH 2AC	Acetato de 2-([N-[(4-cloro-2,5-dimetoxifenil)etil]acetamida]metil)fenil
25C-NBOH 2ATF	2,2,2-trifluoracetato de 2-([N-[(4-cloro-2,5-dimetoxifenil)etil]2,2,2trifluoracetamida]metil)fenila
25E-NBOH	2-([2-(4-etil-2,5-dimetoxifenil)etil]amino)metil)fenol
25E-NBOH 2AC	Acetato de 2-([N-[(4-etil-2,5-dimetoxifenil)etil]acetamida]metil)fenila
25E-NBOH 2ATF	2,2,2-trifluoracetato de 2-([N-[(4-etil-2,5-dimetoxifenil)etil]2,2,2trifluoracetamida]metil)fenila
25R-NBOH	2-([2-(4-R-2,5-dimetoxifenil)etil]amino)metil)fenol
25R-NBOMe	2-(4-R-2,5-dimetoxi-fenil)-N-[(2-metoxifenil)metil]etanoamina
2C-C	4-cloro-2,5-dimetoxifeniletilamina
2C-C AC	N-metil-4-Cloro-2,5-dimetoxifeniletilamida
2C-E	4-etil-2,5-dimetoxifeniletilamina
2C-E AC	N-metil-4-etil-2,5-dimetoxifeniletilamida
2C-R	4-R-2,5-dimetoxifeniletilamina
ALS	Amostrador Líquido Automático (do inglês Automatic Liquid Sampler)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ECD	Detector de captura de elétrons (do inglês Electron Capture Detector)
FID	Detector de ionização por chama (do inglês Flame Ionization Detector)
GC	Cromatografia Gasosa (do inglês Gas Chromatography)
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (do inglês Gas Chromatography tandem Mass Spectrometry)
LC-MS	Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (do inglês Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry)
LSD	Dietilamina do ácido lisérgico (do inglês Lysergic Acid Diethylamide)
MDA	Metilendioxi-anfetamina
MDMA	Metilendioxi-metanfetamina
MS	Espectrometria de massas (do inglês Mass Spectrometry)
NPS	Nova substância psicoativa (do inglês New Psychoactive Substance)

SETEC/SR/PF/M Setor Técnico-Científico da Superintendência Regional de Polícia
G Federal em Minas Gerais
TCD Detector de condutividade térmica (do inglês Thermal Conductivity
Detector)

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1.	Novas Substâncias Psicoativas	3
2.2.	Fenetilaminas	3
2.2.1.	<i>Série de Fenetilaminas 2C-R</i>	4
2.2.2.	<i>Série das Fenetilaminas 25R-NBOH e 25R-NBOMe</i>	5
2.3.	Técnicas Analíticas	6
2.3.1.	<i>Cromatografia Gasosa</i>	6
2.3.2.	<i>Espectrometria de Massas</i>	8
2.3.3.	<i>Técnicas Hifenadas a Espectrometria de Massas</i>	10
2.3.4.	<i>Derivatização</i>	11
2.4.	Derivatização de Fenetilaminas	11
3.	METODOLOGIA	14
3.1.	Obtenção das Amostras	14
3.2.	Reagentes	15
3.3.	Materiais e Equipamentos	15
3.4.	Derivatização das Fenetilaminas	15
3.5.	Análise por GC-MS	16
3.6.	Planejamento experimental	17
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1.	Derivatização das Fenetilaminas	20
4.1.1.	<i>Derivatização do composto 25E-NBOH</i>	23
4.1.1.1.	<i>Formação e caracterização do composto 25E-NBOH 2AC</i>	23
4.1.1.2.	<i>Formação e caracterização do composto 25E-NBOH 2ATF</i>	28
4.1.2.	<i>Derivatização do composto 25C-NBOH</i>	32
4.1.2.1.	<i>Formação e caracterização do composto 25C-NBOH 2AC</i>	32

4.1.2.2.	<i>Formação e caracterização do composto 25C-NBOH 2ATF</i>	36
4.2.	Planejamento Experimental	40
5.	CONCLUSÃO	50
6.	PERSPECTIVAS FUTURAS	51
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1. INTRODUÇÃO

Na última década diversas novas substâncias psicoativas (NPS) surgiram no mercado global de drogas sintéticas ilegais. Essas substâncias são produzidas com intuito de driblar a legislação vigente que regula as substâncias psicoativas. Elas mimetizam o efeito de drogas clássicas como a dietilamida do ácido lisérgico (LSD) e metilenodioximetanfetamina (MDMA) que são substâncias já conhecidas e enquadradas em listagem pela ANVISA, dessa forma tendo sua circulação controlada (ANVISA, 2020).

As substâncias consideradas como Drogas ao serem apreendidas passam por uma série de análises para elaboração do laudo definitivo, essas análises podem ser qualitativas, mas não pode haver dúvida sobre a qual a substância presente na droga, dessa forma a principal técnica confirmativa utilizada no mundo inteiro é a técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS) (BRASIL, 2006; MEIRA et al., 2021).

O GC-MS é uma técnica que envolve a separação dos componentes de uma mistura e a detecção de cada uma das substâncias nela presentes, permitindo determinar a composição geral da mistura. Essa técnica é indicada para análises forenses, pois possui grande poder de discriminação e versatilidade. Um dos requisitos fundamentais para que uma substância possa ser analisada por GC-MS é que ela não se degrade termicamente ao passar para a fase gasosa durante a etapa de aquecimento da amostra (LIN et al., 2008).

Desde 2008 tem havido um aumento no número de NPS reportadas como termolábeis, exemplo dessas é a substância 25R-NBOH e a 25R-NBOMe, representadas pela Figura 3(p. 5), também conhecidas como Nbomb ou *Smile*. Essas substância apresentam propriedades psicoativas e por isso são controladas pela legislação, porém devido à termolabilidade que possuem, ao serem analisadas, decompõem-se na espécie 2C-R, o que resulta em uma identificação equivocada para essas substâncias (DE ANDRADE et al., 2020).

Devido a impossibilidade de se analisar o 25R-NBOH e 25R-NBOMe e seus derivados por GC-MS devido às suas termolabilidade, técnicas instrumentais frias como a Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS) têm sido utilizadas, porém não há muitos equipamentos desse tipo disponíveis nos laboratórios forenses do Brasil. Dessa forma, a técnica de GC-MS, por suas características práticas, como versatilidade, robustez, tempo de análise, bibliotecas de referência, disponibilidade de equipamentos e consumíveis, ainda é a técnica mais utilizada nas análises forenses (MACHADO et al., 2020).

Diversos trabalhos propõem modificações na metodologia de análise para evitar a degradação térmica. Uma alternativa já conhecida para a análise de substâncias termolábeis por

GC-MS consiste na derivatização de forma a se obter um derivado não termolábil (FERRARI et al., 2020). Esse processo já é utilizado para análises de hormônios e anabolizantes (assim como para seus metabólitos) e para drogas clássicas encontradas em fluidos humanos como urina, sangue e saliva (SEBBEN, 2007).

Para se desenvolver os melhores procedimentos de derivatização uma série de quesitos devem ser considerados e avaliados. É necessário, entre outros, pesquisar e selecionar os reagentes capazes de serem incorporados à substância de interesse de forma a proporcionar o efeito de termotolerância, avaliar o grau de dificuldade técnica para se executar a reação, considerar o número de operações envolvidas nas reações e os subprodutos gerados, levar em conta a toxicidade do reagente e o tratamento dos resíduos produzidos na reação (LIN et al., 2008).

O desenvolvimento de metodologias para análise de novas substâncias psicoativas através da derivatização é de grande interesse da comunidade de químicos forenses, pois permitiria identificações inequívocas, rápidas e utilizando o instrumental disponível nos institutos de perícia.

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver e otimizar metodologias de derivatização de substâncias da classe das fenetilaminas conhecida como 25R-NBOH, para análises por GC-MS.

Por último, vale ressaltar que este trabalho faz parte do programa de colaboração do Grupo de Pesquisa em Química Forense do CEFET/MG junto ao Setor Técnico-Científico da Polícia Federal em Minas Gerais que tem o objetivo de desenvolver metodologias e materiais que aprimorem as análises químicas forenses para que estas sejam um instrumento de defesa da sociedade cada vez mais eficiente e robusto.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Novas Substâncias Psicoativas

Segundo definição oficial da *United Nations Office on Drug and crime* (UNODC) as novas substâncias psicoativas (NPS) são “Substâncias de abuso, seja de uma forma pura ou de uma preparação, que não são controladas pela Convenção Única de 1961 sobre narcóticos ou a Convenção sobre Substâncias Psicotrópicas de 1971” (CORAZZA; PRILUTSKAYA, 2018).

As NPS's são substâncias frequentemente derivados de drogas e medicamentos presentes no mercado a partir da substituição ou adição de grupos substituintes em sua estrutura. Através dessa prática é possível burlar as legislações que estabelecem o controle de substâncias químicas em geral, uma vez que esse controle é feito majoritariamente pela listagem das substâncias proscritas. Dessa forma, há uma corrida das forças policiais para apreender essas NPS's e proscrevê-las, porém no momento em que esse objetivo é alcançado, novas NPS's são colocadas em circulação no mercado ilegal. Isso pode ser exemplificado ao observar que entre o ano de 2009 e 2020 mais de 1004 diferentes substâncias foram apreendidas e notificadas a UNODC (ANVISA, 2020; CHAVANT et al., 2015).

As novas substâncias psicoativas por serem derivadas de substâncias já presentes no mercado legal e ilegal são integrantes de diversas classes como: fenetilaminas, catinonas, canabinoides, triptaminas, piperazinas, entres outras subclasses. Por constituírem inúmeras classes de substâncias psicoativas possuem diversas formas de apresentação como papéis absorventes, comprimidos, pós, pastas, entre outras (CHAVANT et al., 2015; CORAZZA; PRILUTSKAYA, 2018; MACHADO et al., 2020).

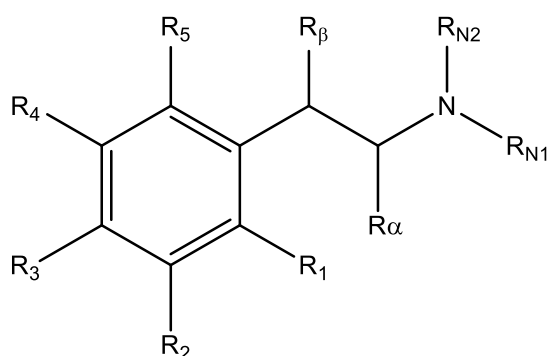
Devido a grande quantidade de variações estruturais das NPS's e, devido ao rápido aumento em seu número, identificá-las e catalogá-las acaba possuindo baixa eficiência uma vez que não se conhecem a termolabilidade de seus inúmeros representantes, suas incompatibilidades com solventes ou reagentes, bem como suas toxicidades. Dessa forma, métodos analíticos inadequados podem levar a identificação incorreta dessas substâncias, distorcendo ou inviabilizando o processo penal, reduzindo ou redimindo a pena (COELHO NETO et al., 2017; DE ANDRADE et al., 2020; ZACCA et al., 2021).

2.2. Fenetilaminas

As fenetilaminas são uma classe de substâncias com efeitos psicoativos como efeitos relaxantes, entactogênicos, alucinogênicos, psicodélicos e dissociativos. Entre as fenetilaminas mais conhecidas e documentadas estão as catinas, catinonas, anfetaminas, efedrinas, pseudoefedrinas, MDA e MDMA (CIPRIANO, 2018).

As fenetilaminas se popularizaram na década de 90 após a publicação do livro, em formato digital, “*PIHKAL: A Chemical Love Story*” por Alexander Shulgin (SHULGIN, 1991). Nesse livro o autor demonstra como sintetizar, a partir de produtos comuns do dia a dia, diversas classes de fenetilaminas. De fato, derivados das fenetilaminas podem ser sintetizadas a partir da substituição de grupos ligantes, Figura 1 (p. 4),— representados pelo radical R - de forma a se obter inúmeras substâncias, algumas delas com efeitos semelhantes entre si e, outras, com efeitos levemente modificados ou novos.

Figura 1 - Estrutura geral das Fenetilaminas



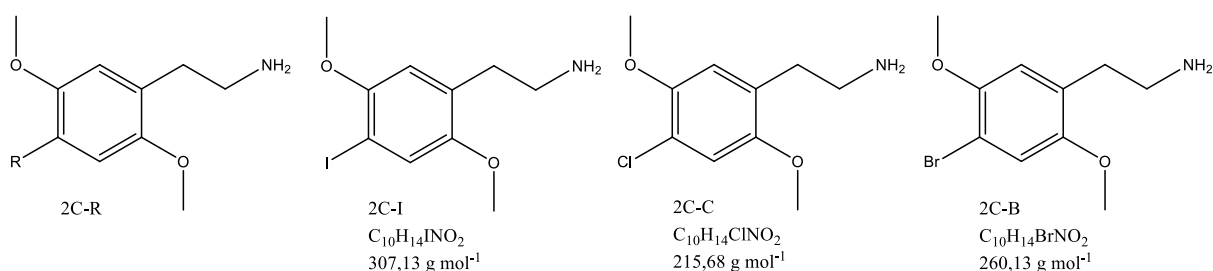
Fonte: CHAVANT et al., 2015

As fenetilaminas, por serem facilmente modificadas, tiveram uma rápida popularização e eram conhecidas e vendidas na internet como “*legal high*”, o que em tradução direta seria “Barato Lícito”. Isso, pois os países não possuíam essas substâncias listadas, inviabilizando a apreensão dos indivíduos que usavam e comercializavam (CHAVANT et al., 2015).

2.2.1. Série de Fenetilaminas 2C-R

Os compostos da série de fenetilaminas 2C-R foram sintetizados pela primeira vez por Alexander Shulgin e descritos em seu livro *PIHKAL – A Chemical Love Story*. Desde então, tem ocorrido uma rápida modificação nas estruturas da série. Os compostos 2C-C e 2C-I são variantes da estrutura 2C-B. Essa variação é obtida pela substituição do grupo R, que na estrutura 2C-B é um átomo de bromo, por átomos de cloro e iodo, respectivamente, conforme mostrado na Figura 2 (p. 4) (DEAN et al., 2013; SHULGIN, 1991).

Figura 2 - Estrutura da 2C-R e suas variações 2C-I, 2C-B e 2C-C



Fonte: Adaptado de MACHADO et al., 2020

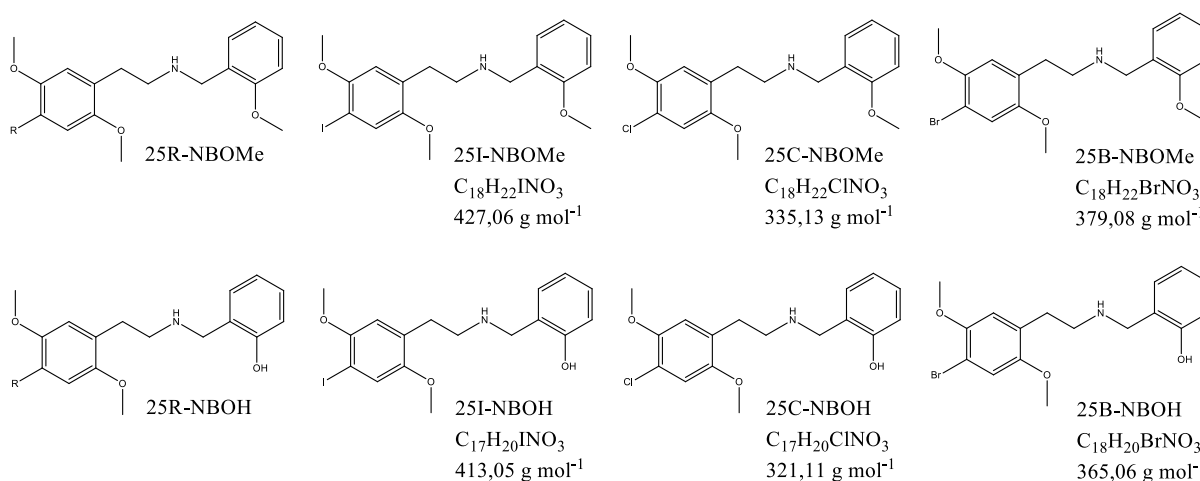
Os 2C-R podem ser encontrados em forma de pó e comprimidos. Geralmente são administradas por via oral ou nasal e a intensidade do efeito varia entre os diversos compostos da série. Os compostos da série, em pequenas doses, tendem a possuir efeitos estimulantes do sistema nervoso central e efeito psicodélico. Já em elevadas doses podem ocorrer efeitos alucinogênicos, aumento da agitação, causando hipertermia, taquicardia e convulsões. Devido aos efeitos de hipertermia e taquicardia, usuários com predisposição podem ir a óbito por parada cardiorrespiratória, hemorragia cerebral, falência múltipla de órgãos ou edema pulmonar (DEAN et al., 2013).

Assim como diversas outras NPS's o seu uso ocorre principalmente em jovens entre 16 e 23 anos, isso pode estar associado ao uso da substância em festivais de música onde é comum o uso de substâncias com efeito psicodélico para estimular a percepção de sons e toques entre as pessoas (DEAN et al., 2013).

2.2.2. Série das Fenetilaminas 25R-NBOH e 25R-NBOMe

Os compostos das séries 25R-NBOH e 25R-NBOMe são derivados dos compostos presentes na série 2C-R. Para as 25R-NBOH ocorre uma adição de um grupo hidroxibenzila substituindo um dos hidrogênios presentes no nitrogênio de amina da 2C-R. Já para as 25R-NBOMe ocorre uma adição de um grupo metoxibenzila ao nitrogênio de amina presente na estrutura da 2C-R, conforme pode ser observado na Figura 3 (p. 5) (CHAVANT et al., 2015; MACHADO et al., 2020).

Figura 3 - Estrutura das 25R-NBOMe e 25R-NBOH e suas variações



Fonte: Adaptado de MACHADO et al., 2020

Os compostos da série 25R-NBOMe começaram a ser comercializados na internet em 2010, mas só em 2011 a polícia polonesa começou a reportar a apreensão da substância em papéis absorventes. As substâncias da série possuem alta afinidade pelo mesmo receptor que o

LSD, apresentando efeitos semelhantes a essa substância, assim como efeitos similares aos compostos da série 2C-R, tais como, euforia, efeitos psicodélicos, experiências místicas, aumento de empatia e efeitos dissociativos (KYRIAKOU et al., 2015).

Devido à semelhança dos efeitos da série 25R-NBOMe com os efeitos do LSD, a substância passou a ser comercializada com a mesma forma de apresentação do LSD, ou seja, em microsselos, porém isso foi realizado de forma velada, visto que o usuário não sabe ao certo qual substância está ingerindo. Algumas vezes, estes compostos receberam o rótulo de “LSD Lícito” (KYRIAKOU et al., 2015).

Apesar dos 25R-NBOMe terem permanecidos em alta no mercado ilegal por poucos anos no período de 2011 a 2014, eles foram associados a uma elevada mortalidade por possuírem uma dose letal baixa. Já foi reportada uma morte de uma jovem de 24 anos após o consumo de aproximadamente 3 microsselos (ARANTES et al., 2017; KYRIAKOU et al., 2015).

No ano de 2014 após a proscrição da série 25R-NBOMe, começou-se a apreender selos de papel absorvente contendo uma nova substância, o 25I-NBOH, dando início assim à série dos 25R-NBOH. Esta série surge com o intuito de propor novos substitutos legais para o 25R-NBOMe, uma vez que possuem efeitos semelhantes e mesma forma de apresentação. Apesar de presentes por pouco tempo no mercado ilegal, diversos componentes da série foram proscritos. Ainda não se conhece a totalidade dos efeitos dessas drogas. Além disso, casos de mortes relacionadas ao uso dessas substâncias já foram reportadas literatura (ARANTES et al., 2017; DE ANDRADE et al., 2020; MACHADO et al., 2020).

2.3. Técnicas Analíticas

2.3.1. Cromatografia Gasosa

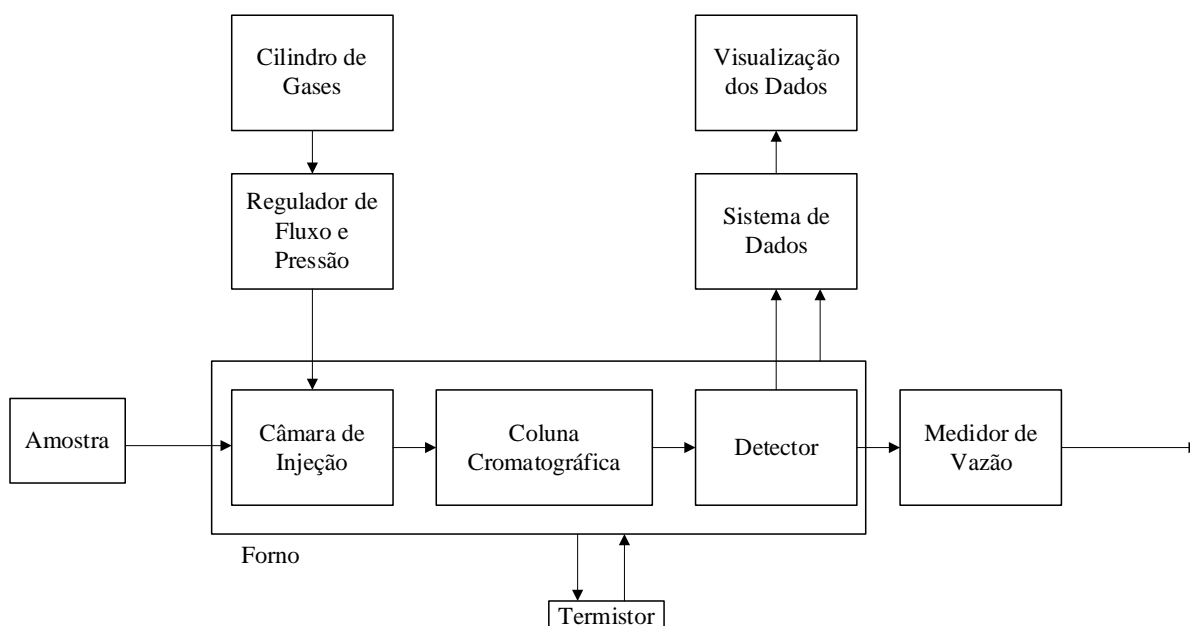
A cromatografia gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) é uma técnica de análise química utilizada para separar, identificar e quantificar diferentes tipos de amostras de diferentes origens, como produtos naturais, alimentos, meio ambiente, forense, medicina, etc. Dentre suas vantagens é possível apontar eficiência, sensibilidade, não utilização de solventes, utilização de pequena quantidade de amostras e resultados rápidos (AMARAL et al., 2017).

O processo de análise envolve a separação de compostos voláteis e termicamente estáveis, que são vaporizados e introduzidos na coluna cromatográfica. A fase móvel, composta por um gás inerte, é responsável pela eluição de substâncias por meio de uma fase estacionária. A fase estacionária adsorve os compostos presentes na fase móvel gerando assim diversos equilíbrios de adsorção, análogos aos pratos teóricos de uma destilação fracionada. Adicionando compostos de maior polaridade a coluna é possível aumentar a interação da fase

estacionária com analitos polares e reduzir a interação com analitos pouco polares, dessa forma devido a variação de polaridade, gerando uma diferença de velocidade entre os compostos, o que permite a separação cromatográfica destes (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2018).

A partir da Figura 4 (p. 7) é possível observar um diagrama de blocos para um cromatógrafo gasoso, que representa a construção geral do equipamento.

Figura 4 - Diagrama de Blocos para um Cromatógrafo Gasoso



Fonte: Adaptado de SKOOG, DOUGLAS; HOLLER, F.; NIEMAN, 2018.

Os gases utilizados como fase móvel são armazenados em cilindros pressurizados. O gás mais amplamente utilizado é o Hélio, uma vez que este é compatível com a maioria dos detectores. Entretanto outros gases como Nitrogênio, Hidrogênio e Argônio podem também ser empregados, porém deve-se atentar as especificações da técnica e do equipamento. O equipamento deve ser alimentado constantemente com gás inerte uma vez que a presença de Oxigênio na coluna cromatográfica pode levar a oxidação da fase estacionária, já a presença de água na coluna pode levar a hidrólise das cadeias poliméricas que compõem a fase estacionária, aumentando o sangramento da coluna (MCMASTER, 1999; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2018).

A injeção da amostra é uma etapa crítica para a qualidade do cromatograma, uma vez que uma má injeção pode ocasionar em alargamento de pico cromatográfico e baixa resolução. Para contornar esse problema é empregado um amostrador líquido automático (ALS, do inglês automatic liquid sampler), que permite automatizar o processo de injeção, reduzindo assim variações no processo de injeção. Para melhorar a resolução dos picos cromatográficos e reduzir os alargamentos de pico, também são empregadas seringas calibradas e diafragmas de borracha

(septos), que permitem que a seringa injete a amostra sem deixar espaço para que os vapores do analito escapem da câmara de injeção (HÜBSCHMANN, 2015).

As colunas cromatográficas podem ser divididas em dois grupos: empacotadas e capilares. As colunas empacotadas possuem menor comprimento podendo variar entre 1 m e 5 m e são compostas por um tubo metálico recheado com um sólido pulverizado. Elas são amplamente utilizadas para situações nas quais é necessário o uso de maior pressão e injeção de elevados volumes de amostra. As colunas capilares são compostas por um fino tubo metálico que possuem paredes internas recobertas com um filme fino e comprimento entre 10,0 m a 100,0 m. A qualidade da separação pode ser atribuída a fatores intrínsecos à coluna, como comprimento e polaridade (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2018).

Os fornos são termostatizados, uma vez que o controle de temperatura do sistema é essencial para a separação dos compostos. O ajuste da temperatura depende do grau de separação desejado e da temperatura de ebulição dos analitos nas amostras, uma vez que embora ocorra a volatilização dos compostos na câmara de injeção, a operação do forno a uma temperatura muito inferior ao ponto de ebulição pode gerar a condensação dos compostos dentro da coluna. A programação de uma rampa de aquecimento gradual na análise permite obter um cromatograma com menores tempos de retenção e picos mais finos, dessa forma garantido uma melhor resolução (MCMMASTER, 1999).

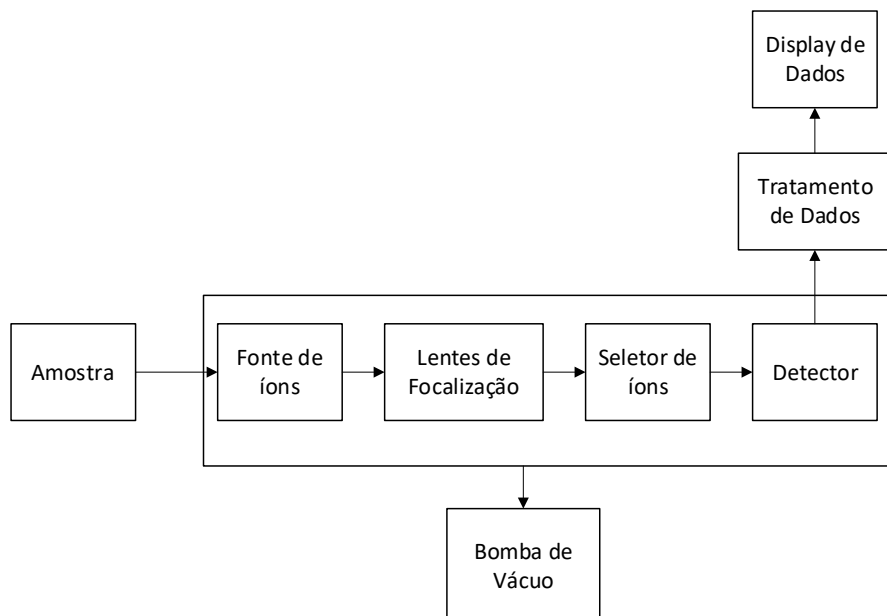
Um detector apresenta uma série de características gerais, entre elas pode-se apontar: estabilidade, reprodutibilidade, facilidade de uso, alta confiabilidade, sensibilidade elevada, rápido tempo de resposta. Existem diversos tipos de detectores, como: ionização em chama (FID, do inglês *Flame Ionization Detector*), espectrômetro de massas (MS, do inglês *Mass Spectrometry*), condutividade térmica (TCD, do inglês *Thermal Conductivity Detector*) e captura de elétrons (ECD, do inglês *Electron Capture Detector*) (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2018).

2.3.2. *Espectrometria de Massas*

A espectrometria de massas é uma ferramenta analítica indispensável para a química, bioquímica, farmácia, toxicologia, entre outras áreas das ciências. Trata-se de uma técnica de identificação de substâncias que mede, de maneira qualitativa ou quantitativa, a razão massa/carga (m/z) de íons provenientes de compostos orgânicos ou inorgânicos. Através da análise dos íons fragmentos provenientes de compostos orgânicos é possível realizar a elucidação estrutural desses compostos permitindo, assim, identificá-los ao comparar os fragmentos com um banco de dados (GROSS, 2017).

A Figura 5 (p. 9) representa um diagrama de blocos para um espectrômetro de massas genérico, assim como o fluxo das informações no equipamento.

Figura 5 - Diagrama de blocos para um espectrômetro de massas



Fonte: Adaptado de GROSS, 2017

O sistema de bombas de vácuo em um espectrômetro de massas é crucial para a formação dos fragmentos, pois aumenta a probabilidade de uma colisão do agente ionizante, seja esse químico ou por impacto de elétrons com o analito. Além disso, garante que os fragmentos não sejam oxidados pelo oxigênio presente na atmosfera. Para garantir um vácuo adequado sem comprometer a integridade das bombas é empregado uma associação dessas. Os principais tipos de mecanismo para gerar o vácuo são: vácuo mecânico, difusão de óleo e turbomolecular (HÜBSCHMANN, 2015).

As bombas mecânicas utilizam o movimento de um pistão em uma câmara hermeticamente fechada para drenar o ar de dentro do reservatório, essas bombas são utilizadas como bombas de vácuo primário, pois drenam a maior fração do ar e são de menor custo, seu vácuo chega até 10^{-3} Torr (MCMASTER, 1999).

As bombas de difusão a óleo utilizam um sistema de aquecimento para levar o óleo a ebulição. Ao entrar em ebulição, o ar é empurrado para fora da bomba e o óleo condensa nas paredes da bomba. Essas bombas são utilizadas para gerar o vácuo secundário. Como utilizam óleo quente, deve-se operá-las em um vácuo menor que 10^{-2} Torr, pois há risco de combustão em caso contrário. Essas bombas podem chegar até 10^{-9} Torr quando refrigeradas com nitrogênio líquido (MCMASTER, 1999).

As bombas turbomoleculares utilizam uma série de lâminas que, rotacionadas em altas velocidades, forçam a passagem do ar. Esse mecanismo é o mesmo empregado em turbinas a jato. Como essas bombas possuem elevada rotação, é importante que não haja presença de material particulado pois poderiam danificar suas lâminas. Essas bombas podem alcançar um vácuo de até 10^{-8} Torr (MCMASTER, 1999).

As fontes de íons podem utilizar diversos mecanismos de ionização, entre eles: impacto de elétrons (EI, do inglês *Electron Impact*), ionização por eletrospray (ESI, do inglês *Electron Spray Ionization*), ionização química (CI, do inglês *Chemical Ionization*) e ionização por dessorção (FAB, do inglês *Fast Atom Bombardment*) (MCMASTER, 1999). Cada sistema tem suas vantagens, porém dentre eles o mais empregado para análises de rotina é o impacto de elétrons. Uma vez que controlada a energia do elétron, é possível obter uma elevada reprodutibilidade das análises em diferentes equipamentos, permitindo a construção de bibliotecas de fragmentos (espectros de massas). A principal energia de ionização empregada é 70 eV. Essa energia tem como vantagem superar a maior parte das energias de ionização, porém tem como desvantagem gerar alguns fragmentos muito instáveis, impedindo que esses cheguem até o detector (GROSS, 2017).

Os sistemas de lentes e de seleção de íons operam em conjunto, pois as lentes de focalização atuam repelindo os íons para fora da câmara de ionização diretamente para o sistema de seleção. O sistema de seleção de íons pode ser um quadrupolo simples ou um triplo quadrupolo, sendo o primeiro mais comum devido ao seu custo e a baixa necessidade de análise de fragmentação dos fragmentos primários, foco de aplicação dos triplos quadrupolos. O sistema de quadrupolo utiliza um campo magnético para atrair os íons, porém ao variar a frequência da corrente elétrica no quadrupolo haverá a seleção dos íons de acordo com os valores m/z pelo analisador do tipo quadrupolo. Esse seletor consiste em quatro barras paralelas arranjadas em pares de potenciais elétricos opostos, que por sua vez geram um campo eletrostático oscilante. Os íons com razão m/z incorreta são direcionados às barras do quadrupolo, enquanto que os íons com razão m/z correta atravessam o analisador para chegar ao detector (SILVERSTEIN et al., 2015).

O detector do espectrômetro de massas realiza a contagem dos íons que foram selecionados pelo quadrupolo, dessa forma permitindo relacionar a abundância desses íons com a razão m/z (MCMASTER, 1999).

2.3.3. Técnicas Hifenadas a Espectrometria de Massas

A espectrometria de massas é uma técnica com elevado poder elucidativo, uma vez que a técnica busca analisar a estrutura molecular através dos fragmentos dos compostos analisados.

Porém em diversas análises não será possível obter um composto puro, como é o caso de análises forenses, ambientais, alimentícias, entre outras. Dessa forma é necessário realizar a separação dos compostos previamente, porém isolar os compostos manualmente pode levar a um maior erro durante as análises. Por meio da hifenização das técnicas de separação de misturas com o espectrômetro de massas é possível realizar a separação dos compostos e a identificação dos constituintes de misturas (AMARAL et al., 2017; CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008; MCMASTER, 1999).

Buscando sanar essa deficiência as principais técnicas analíticas acopladas aos espectrômetros de massas são cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*), sendo necessário certas modificações no equipamento para sua realização. A hifenação de outras técnicas de separação, como eletroforese capilar, cromatografia em camada delgada e cromatografia de permeação em gel, é possível, porém pouco comum (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008).

A hifenação à cromatografia gasosa é a mais amplamente difundida devido as condições de operação do cromatógrafo serem compatíveis com o alto vácuo do espectrômetro de massas. Uma das grandes facilidades de se utilizar a cromatografia gasosa é poder acoplar uma das extremidades da coluna, caso coluna capilar, diretamente ao espectrômetro de massas necessitando apenas uma interface de transferência para manter a temperatura e evitar a condensação (MCMASTER, 1999).

2.3.4. Derivatização

A cromatografia gasosa também apresenta algumas desvantagens, que são carregadas para a técnica hifenada. Entre essas desvantagens sobrepõe-se: a necessidade de compostos termicamente estáveis e voláteis, restrição quanto ao uso de matriz em fase aquosa. Essas restrições, entretanto, podem ser contornadas. Para contornar as especificidades das características intrínsecas aos compostos pode-se utilizar um processo conhecido como derivatização (LIN et al., 2008).

A derivatização consiste em analisar sítios ativos na molécula e protegê-los ou adicionar grupos volumosos para diminuir a polaridade e aumentar a volatilidade dos compostos. Em caso de compostos termolábeis é possível formar ésteres e amidas, esses compostos são estabilizados por ligações de hidrogênio internas ou formação de dímeros. Já adição de grupos volumosos permite reduzir o ponto de ebulição dos compostos, uma vez que eles reduzem a compactação as moléculas (MCMASTER, 1999).

2.4. Derivatização de Fenetilaminas

A análise de drogas por GC-MS é um processo rápido, com simples preparo de amostra. O GC-MS é considerado uma técnica classe A devido a grande quantidade de informações elucidativas da estrutura que podem ser extraídas. No entanto, no que se refere à análise de *designers drugs*, essa técnica começa a apresentar uma série de limitações. Diversas substâncias dessa classe possuem elevada termolabilidade e durante o processo de vaporização da amostra, estão sujeitas a sofrerem degradação térmica, o que pode levar a um erro de identificação. Para contornar esse problema é utilizada a derivatização. Esse processo é empregado para aumentar a estabilidade da molécula, aumentar sua volatilidade, reduzir o alargamento do pico cromatográfico e facilitar a separação das substâncias na corrida cromatográfica (DE ANDRADE et al., 2020; LIN et al., 2008).

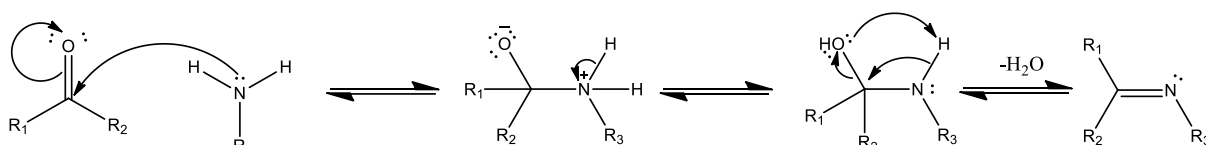
Para realizar o processo de derivatização é necessário avaliar a estrutura da molécula e identificar os sítios ativos onde pode ocorrer a reação de derivatização. Os sítios ativos mais comuns são o oxigênio e o nitrogênio da hidroxila e da amina, respectivamente. Analisando a estrutura geral das fenetilaminas presente na Figura 1 (p. 4), o principal sítio ativo para a derivatização são os elétrons não ligantes do nitrogênio de amina. A etapa seguinte, consiste em levantar grupos protetores para aminas e realizar a reação de derivatização (LIN et al., 2008; WUTS; GREENE, 2006).

As principais reações de proteção para aminas consistem na formação de amidas através de uma reação de acilação e a pela formação de amina sililada a partir da sililação do nitrogênio da amina substituindo um hidrogênio por um grupo trimetilsilila (TMS). Esse é o ponto onde ocorre a reação uma reação de substituição nucleofílica (LIN et al., 2008; WUTS; GREENE, 2006).

A preparação de amidas é frequentemente realizada através da reação de uma amina primária ou secundária com um cloreto de acila e anidridos. Além desses reagentes, inúmeros outros já foram documentados e tiveram suas metodologias desenvolvidas. A formação de amidas é muito utilizada devido a estabilidade do grupo funcional à hidrólise ácida ou básica, além disso sua clivagem é realizada através de aquecimento em soluções de meio fortemente ácido ou básico. Existem anidridos substituídos com átomos de halogênios, o que permite que amida seja facilmente hidrolisada. A labilidade dos compostos formados aumenta proporcionalmente ao número de halogênios adicionados ao anidrido, isso pode ser explicado uma vez que o íon formado é estabilizado por efeito indutivo dos halogênios que suportam a carga negativa do íon, porém esse aumento na labilidade é compensada pelo aumento na volatilidade do composto o que permite realizar a volatilização sob menores temperaturas (SEBBEN, 2007; WUTS; GREENE, 2006).

Outro processo empregado é a adição do grupo alquila pela condensação através da formação de uma base de Schiff. Apesar de pouco descrito, o processo pode ser utilizado para derivatização de substâncias psicoativas que possuam o grupo amina, como as fenetilaminas. A formação da base de Schiff pode ser observada pela Figura 6 (p. 13). Ressalta-se que a reação acontece em equilíbrio, logo estratégias como o aquecimento do sistema podem favorecer a formação do produto de interesse (EL-HAJ et al., 2003).

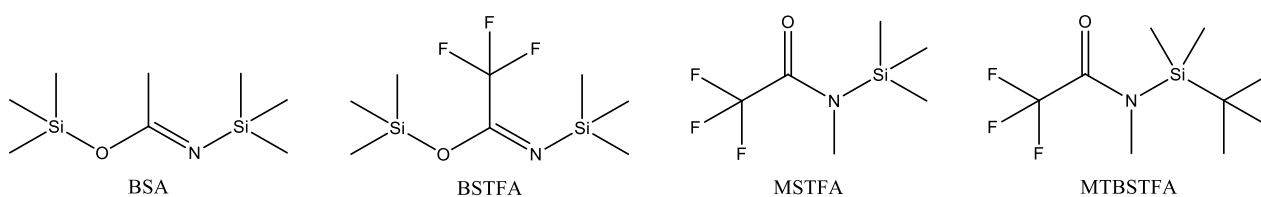
Figura 6 - Formação da base de Schiff



Fonte: Adaptado de T. W. GRAHAM SOLOMONS CRAIG B. FRYHLE, 2016

A adição do grupo TMS à amina pode ser realizada utilizando N,O-bis(trimetilsilil)acetamida (BSA), bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA), N-metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida (MSTFA) e N-(*tert*-butildimetilsilil)-N-metiltrifluoroacetamida (MTBSTFA), esses reagentes são amplamente empregados por serem doadores do grupo TMS, permitindo a sililação, suas estruturas estão apresentadas na Figura 7 (p.13). Uma desvantagem desse processo é o custo, uma vez que os reagentes são caros e vendidos em poucos mililitros. O elevado custo do processo de sililação é compensado pelo aumento na volatilidade da amostra, o que permite a operação do cromatógrafo gasoso em temperaturas mais amenas (LIN et al., 2008; SEBBEN, 2007).

Figura 7 - Reagentes comuns para Sililação



Fonte: Adaptado de LIN et al., 2008

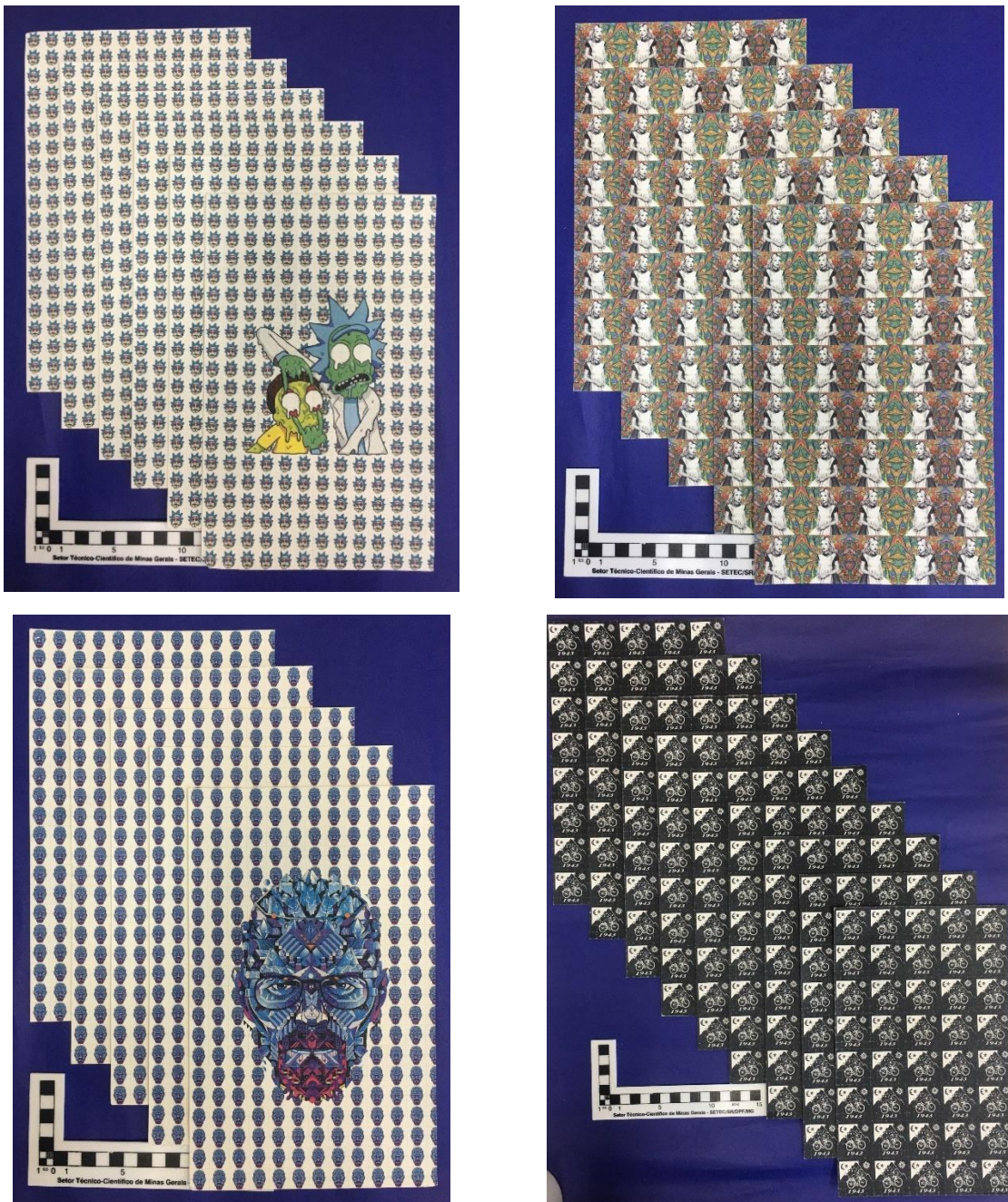
É necessário observar que grande parte dos reagentes empregados possuem ou podem formar subprodutos ácidos, esses compostos devem ser neutralizados para evitar degradação da fase estacionária da coluna cromatográfica. Para isso, pode-se utilizar o hidróxido de amônio que ao reagir com os compostos ácidos forma a base conjugada do ácido e água, além de seu excesso se decompor em amônia e água (FOGARTY et al., 2019).

3. METODOLOGIA

3.1. Obtenção das Amostras

Todas as amostras de NSP estudadas nesse trabalho foram cedidas pelo laboratório de química forense do Setor Técnico Científico da Superintendência Regional de Polícia Federal de Minas Gerais (SETEC/SR/PF/MG). As amostras são fruto de apreensões realizadas pela Polícia Federal e se encontravam na forma de selos de papel tipo mata borrão. As amostras podem ser observadas na Figura 8 (p. 14).

Figura 8 - Amostras cedidas pela Polícia Federal para elaboração do trabalho



Fonte: Acervo pessoal (2022)

3.2. Reagentes

- Acetonitrila 99,5% P.A., marca ISOFAR , lote nº090948
- Álcool metílico 99,8% P.A., marca SCIAVICCO, lote nº180404
- Anidrido acético, doado pelo Prof. Dr. Marcelo Valle da UFSJ
- Anidrido trifluoracético marca SUPELCO Separation Technologies, lote nº RA2921
- Clorofórmio 98,8% P.A./ACS Estabilizado com Amileno, marca NEON, lote nº41433

3.3. Materiais e Equipamentos

- Cromatógrafo Gasoso Agilent Technologies modelo 8890 acoplado ao Espectrômetro de massas Agilent Technologies modelo GC-MS 5977B
- Lavadora Ultra-sônica Digital SoniClean 6, marca Sanders Medical, com capacidade de 6,1 L e frequência de 40kHz
- Tubo de Ensaio 5 mL
- Vortex Denley VibroMix Thermo Electron Corporation
- *Vials Screw Top* incolor de 2 mL Agilent Technologies

3.4. Derivatização das Fenetilaminas

O desenvolvimento da metodologia de derivatização foi realizada nos laboratórios do SETEC/SR/PF/MG e alterando diversos parâmetros da reação entre dois diferentes reagentes e dois NPS's com o objetivo de se obter as reações mais eficientes. Os reagentes utilizados podem ser observados na Tabela 1 (p. 15), que relaciona os reagentes e os solventes a serem utilizados no processo de derivatização para cada reagente.

Tabela 1 - Relação de reagentes e solventes para derivatização

Reagentes	Solventes
Anidrido acético	Metanol
	Acetonitrila
Anidrido trifluoracético	Acetonitrila

Inicialmente foi necessário realizar uma extração das NPS's de seus respectivos suportes, visto que os essas se encontravam impregnadas em selos de papel (Figura 8, p. 14). Essa extração foi realizada em três etapas. Inicialmente, cortou-se três micro selos em finas tiras de aproximadamente 2 mm visando aumentar a superfície de contato entre o microselo e o solvente. Em seguida, transferiu-se os microsselos cortados para um tubo de ensaio de 5 mL, e adicionou-se 1 mL de clorofórmio 98%, estabilizado com amileno, com auxílio de uma pipeta automática de 1 mL e sonicou-se por 5 minutos. Este procedimento visava extrair corantes e açúcares presentes nos selos. Com auxílio de uma pipeta automática de 1 mL, descartou-se o

clorofórmio impregnado de impurezas e adicionou-se 1 mL do solvente de derivatização (metanol ou acetonitrila) ao tubo de ensaio e novamente sonicou-se por 5 minutos. Em seguida transferiu-se o sobrenadante para um *vial* virgem.

Completada a etapa de extração, realizou-se a análise por GC-MS a fim de obter um cromatograma anterior a derivatização. Em seguida adicionou-se ao *vial* contendo o extrato, 20 µL do reagente de derivatização. O *vial* foi agitado em vórtex por 30 segundos e deixado em repouso a temperatura ambiente por 10 minutos. Terminado o tempo reacional realizou-se a análise por GC-MS.

3.5. Análise por GC-MS

A análise confirmativa dos compostos obtidos durante a derivatização foi realizada utilizando o equipamento da empresa Agilent Technologies modelo GC-MS 5977B, presente nos laboratórios da Polícia Federal. O equipamento utilizado consiste em um cromatógrafo gasoso modelo 8890 da empresa Agilent Technologies acoplado a um espectrômetro de massas modelo 5977 da empresa Agilent Technologies com detector de massas de único quadrupolo, além disso o equipamento também possui um amostrador automático de líquidos (ALS) da empresa Agilent Technologies modelo 7396A.

O detector de massas foi operado no modo de íons positivos utilizando como método de ionização o impacto de elétrons a 70eV, realizando uma análise *Full Scan* em uma faixa de 30 a 550 *m/z*. O gás de arraste utilizado foi o gás Hélio 5.0 e foi empregada uma coluna cromatográfica também da empresa Agilent Technologies, modelo HP-5MS.

O método de análise por GC-MS utilizado, denominado método rápido - desenvolvido pelo Instituto Nacional de Criminalista e disponibilizado para todos os laboratórios de química forense da Polícia Federal - utiliza os parâmetros apresentados na Tabela 2 (p. 17).

Tabela 2 - Parâmetros empregados no Método Rápido da Polícia Federal

Parâmetros	Método Empregado
Temperatura do Injetor	280°C
Volume de injeção	0,2 µL
Modo de injeção	Splitless
Fluxo do gás de arraste	0,8 mL/min
Programa de Temperatura do Forno	Temperatura inicial de 200°C com uma isoterma de 1 minuto, com uma rampa de 80°C/min até 315°C com uma isoterma de 7 minutos.
<i>Solvent Delay</i>	1,3 min
Temperatura da Linha de Transferência	300°C
Modo de aquisição	<i>Full Scan</i>
Tempo total de análise	9,875 min

Fonte: SETEC/SR/PF/MG

3.6. Planejamento experimental

O planejamento experimental empregado foi um planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} , com duplicatas em todos os ensaios. A execução dos ensaios foi aleatória e utilizou-se como resposta a área do pico cromatográfico. A Tabela 3 (p. 17) e a Tabela 4 (p. 18) relacionam os fatores empregados bem como a matriz codificada para os ensaios. Para o experimento, fixou-se apenas o reagente de derivatização anidrido acético.

Tabela 3 - Fatores empregados no planejamento experimental

Fator	Tempo	Quantidade de Analito	Analito	Quantidade de Reagente	Solvente
-1	1 min	3 microsselos	25E-NBOH	20 µL	Metanol
+1	11 min	5 microsselos	25C-NBOH	100 µL	Acetonitrila

Tabela 4 - Matriz codificada de ensaios do planejamento fatorial 2^{5-1} com duplicatas

Ensaio	Tempo	Quantidade de Analito	Analito	Quantidade de Reagente	Solvente
1	-1	-1	-1	-1	1
2	1	-1	-1	-1	-1
3	-1	1	-1	-1	-1
4	1	1	-1	-1	1
5	-1	-1	1	-1	-1
6	1	-1	1	-1	1
7	-1	1	1	-1	1
8	1	1	1	-1	-1
9	-1	-1	-1	1	-1
10	1	-1	-1	1	1
11	-1	1	-1	1	1
12	1	1	-1	1	-1
13	-1	-1	1	1	1
14	1	-1	1	1	-1
15	-1	1	1	1	-1
16	1	1	1	1	1
17	-1	-1	-1	-1	1
18	1	-1	-1	-1	-1
19	-1	1	-1	-1	-1
20	1	1	-1	-1	1
21	-1	-1	1	-1	-1
22	1	-1	1	-1	1
23	-1	1	1	-1	1
24	1	1	1	-1	-1
25	-1	-1	-1	1	-1
26	1	-1	-1	1	1
27	-1	1	-1	1	1
28	1	1	-1	1	-1
29	-1	-1	1	1	1
30	1	-1	1	1	-1
31	-1	1	1	1	-1
32	1	1	1	1	1

Para a análise cromatográfica, utilizou-se um método SIM Scan, específico para cada composto visando obter uma melhor resposta para os ensaios, empregando o método cromatográfico apresentado pela Tabela 2 (p. 17). A Tabela 5 (p. 19) relaciona os íons monitorados para cada composto derivatizado.

Tabela 5 - Íons monitorados SIM Scan

Composto	Íons monitorados
25E-NBOH 2AC	399, 192, 178, 107
25C-NBOH 2AC	405, 198, 178, 107

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

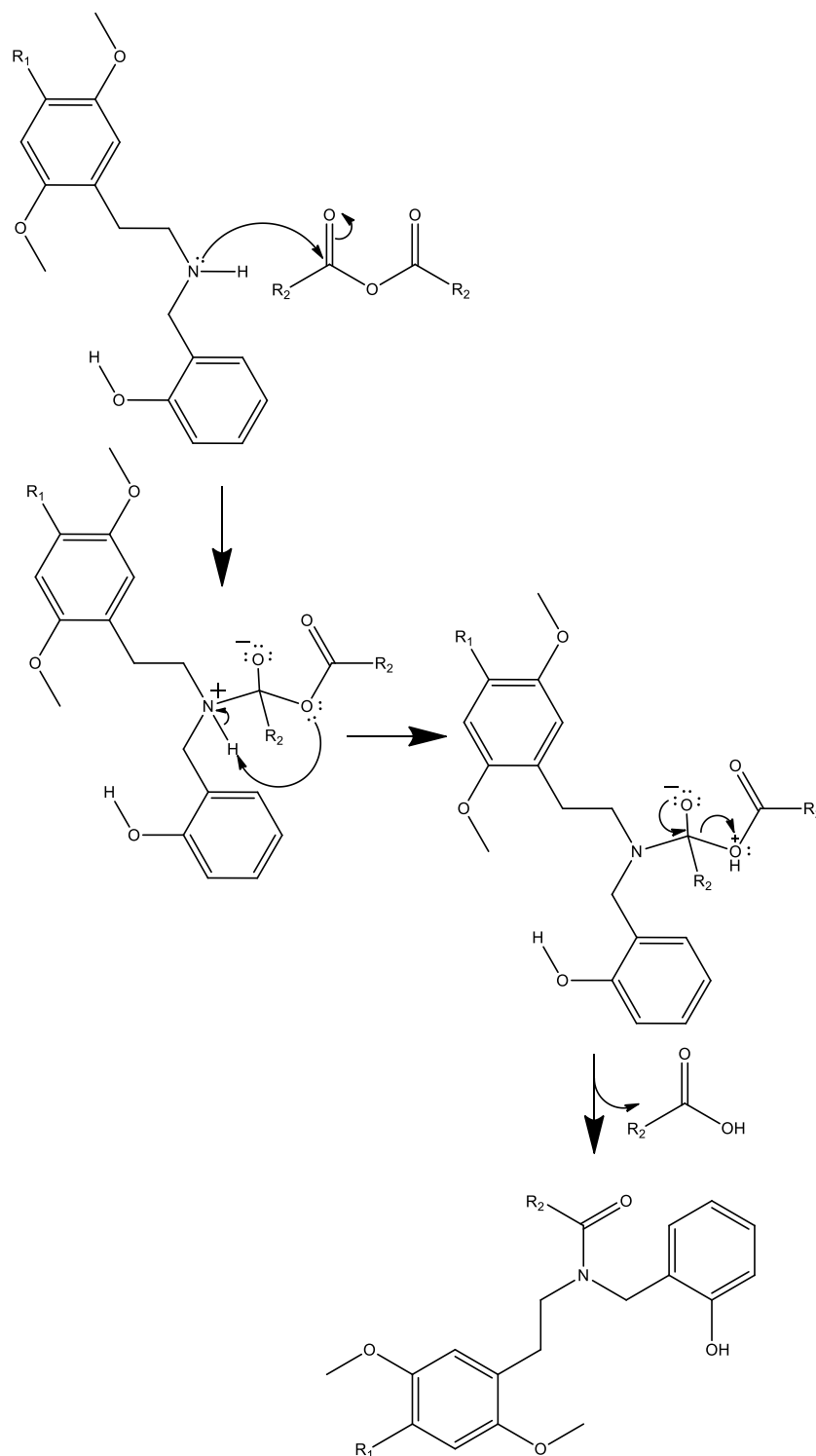
4.1. Derivatização das Fenetilaminas

A formação dos compostos estudados corresponde a uma reação de adição-eliminação. Segundo Solomons (2016a), a reação acontece em duas etapas, inicialmente, o par de elétrons do nitrogênio (sítio ativo) ataca o carbono carbonílico, que possui uma carga parcial positiva, e como resultado desse ataque ocorre a formação do derivado monoacetilado, conforme pode ser observado no mecanismo da reação apresentado na Figura 9 (p. 21).

A segunda substituição acontece também por uma reação nucleofílica, uma vez que o composto possui dois sítios ativos, conforme pode ser observado no mecanismo da reação representada pela Figura 10 (p. 22). Desta vez, no entanto, o ataque ao carbono carbonílico se dá pelo par de elétrons do oxigênio da hidroxila fenólica.

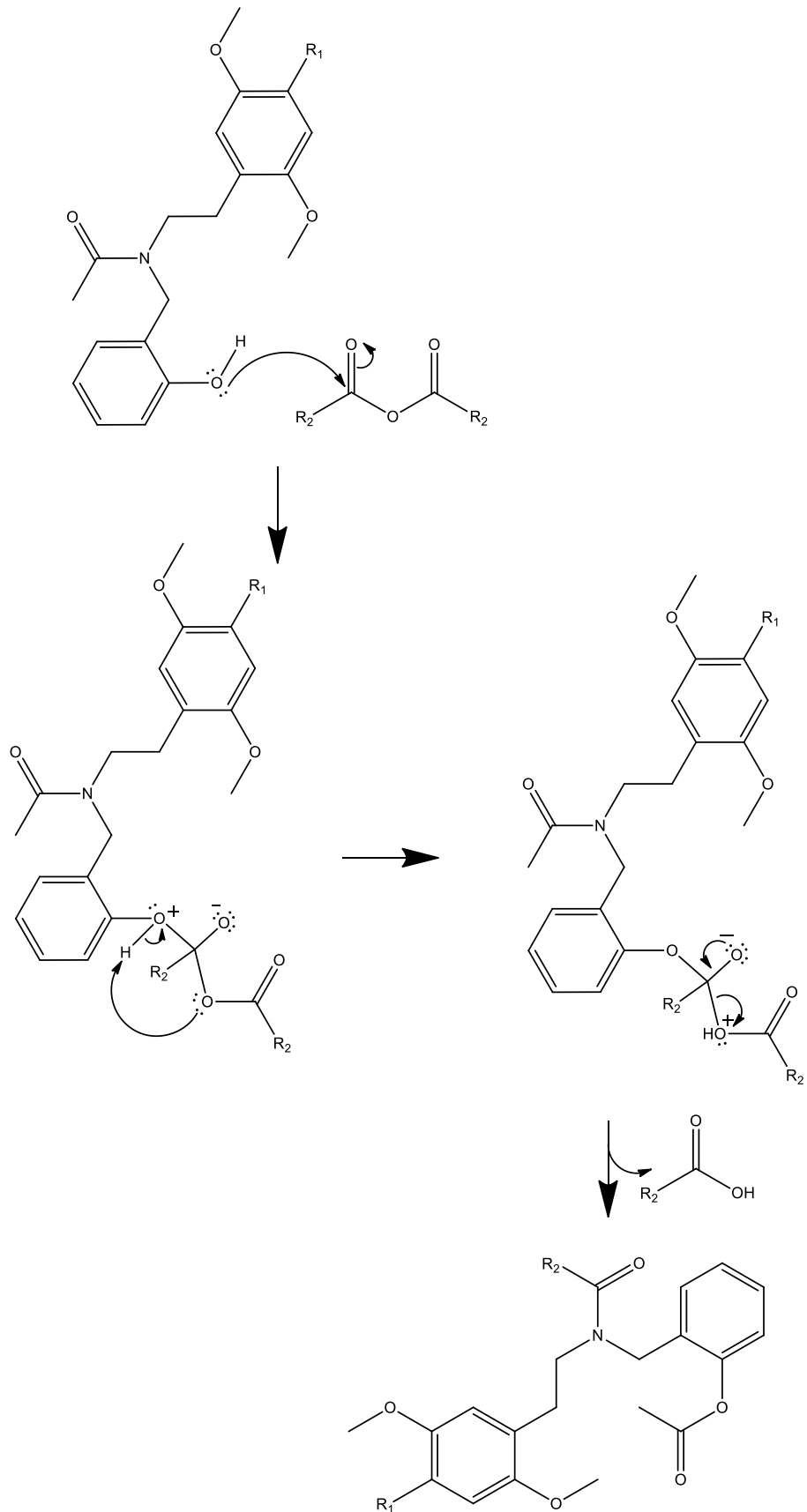
A diferença entre os reagentes derivatizantes é a substituição dos grupos R_2 pelos grupos metila, no caso de anidrido acético, e trifluorometila, no caso de anidrido trifluoracético. Os analitos estudados se diferenciam pela substituição do grupo R_1 pelo grupo etila, no caso de 25E-NBOH, e por um átomo de cloro, no caso de 25C-NBOH.

Figura 9 – Mecanismo de formação do composto monoacetilado



Fonte: T. W. GRAHAM SOLOMONS CRAIG B. FRYHLE, 2016

Figura 10 – Mecanismo de formação do composto diacetilado



Fonte: T. W. GRAHAM SOLOMONS CRAIG B. FRYHLE, 2016

Realizou-se a síntese dos derivados utilizando dois solventes distintos (metanol e acetonitrila), ambos escolhidos devido a sua polaridade. A escolha foi orientada pelo fato de os substratos serem mais facilmente extraídos dos selos por solventes polares. A caracterização dos derivados foi realizada utilizando a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas.

4.1.1. Derivatização do composto 25E-NBOH

A Derivatização do composto foi realizada utilizando dois reagentes distintos, dessa forma gerando dois produtos distintos o 25E-NBOH diacetilado (25E-NBOH 2AC) e o 25E-NBOH di-trifluoroacetilado (25E-NBOH 2ATF).

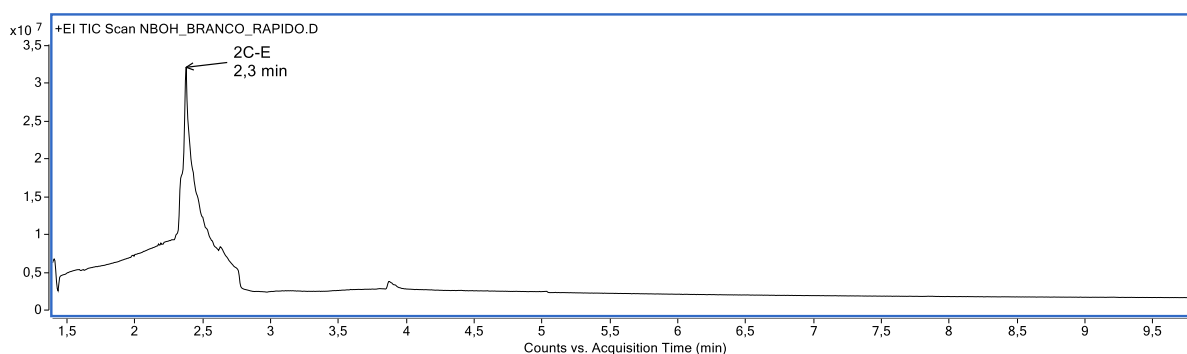
4.1.1.1. Formação e caracterização do composto 25E-NBOH 2AC

A caracterização do composto foi realizada utilizando a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

- Análise do produto da reação em metanol

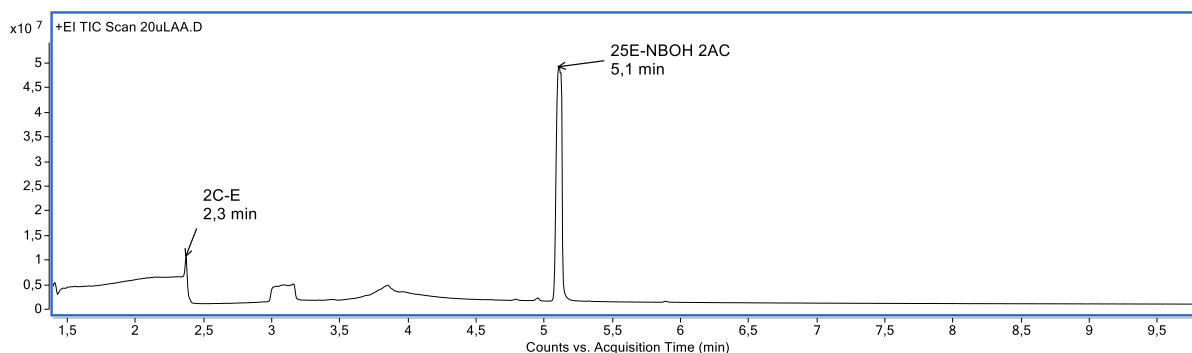
A comparação dos cromatogramas antes e após a adição do reagente de derivatização (ambos em metanol), permite constatar que um novo composto é obtido quando o reagente de derivatização é utilizado: a Figura 11 (p. 23) representa a amostra antes do processo de derivatização e a Figura 12 (p. 24) representa a amostra após o processo de derivatização.

Figura 11- Cromatograma da injeção pré-derivatização em metanol



Fonte: Acervo pessoal (2022)

Figura 12 - Cromatograma da injeção após derivatização em metanol



Fonte: Acervo pessoal (2022)

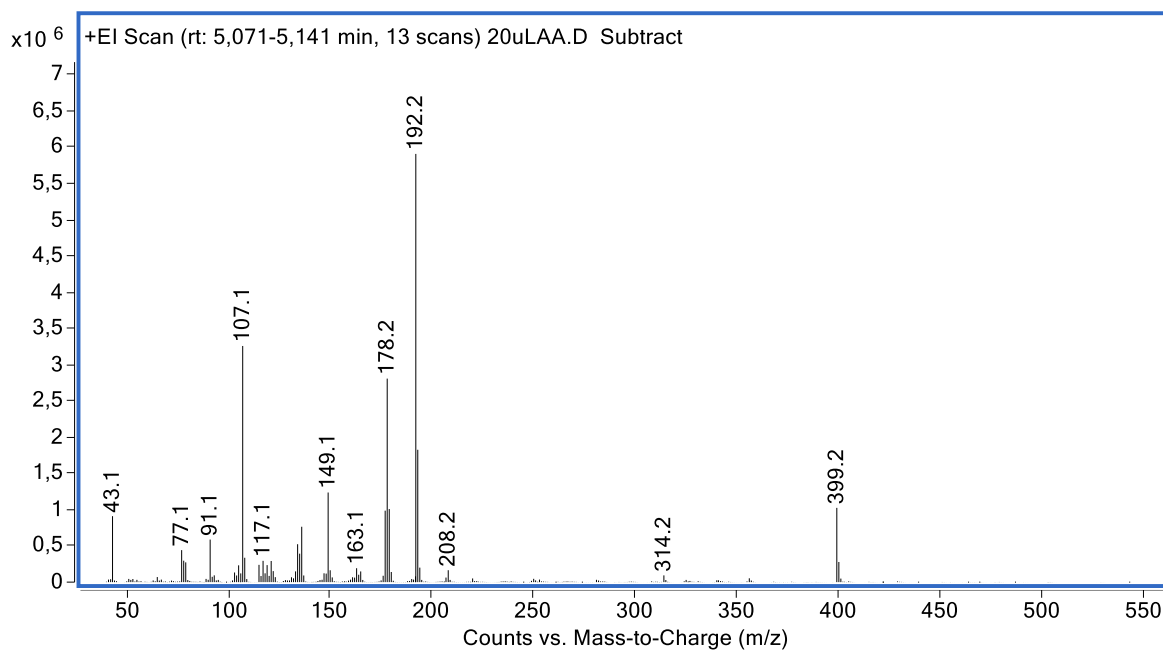
Analisando os cromatogramas é possível visualizar que antes da derivatização há um composto eluído em 2,3 minutos, já após a adição do reagente de derivatização há a eluição de um composto em 5,1 minutos, supostamente 25E-NBOH 2AC, um indicativo de formação de uma nova substância.

Ao avaliar espectro de massas do composto eluído em 2,3 minutos e compará-lo com as bibliotecas através do software NIST, foi possível caracterizá-lo como 2C-E com compatibilidade de 92,4%. Esse composto é característico da degradação do 25E-NBOH, uma vez que é seu precursor. O erro mais comum na identificação do 25E-NBOH por GC-MS é confundi-lo com seu precursor, já que este último também é comercializado como substância recreativa (MACHADO et al., 2020).

Observou-se também picos menores no Figura 12 (p. 24), porém sua identificação não foi possível pois os resultados retornados pela biblioteca não apresentavam compatibilidade entre os picos comparados. Esses picos podem ser associados a resquícios de materiais não extraídos durante lavagem dos papéis utilizando clorofórmio.

Avaliando o espectro de massas do composto eluído em 5,1 minutos, não se obteve uma combinação positiva (*match*) com os espectros das bibliotecas eletrônicas do GC-MS, porém foi observada a formação do íon de m/z 399. Esse íon é correspondente ao íon molecular do composto de interesse. Além disso também observou a formação dos íons de m/z 192, 178, 136 e 107 que são comumente encontrados durante a fragmentação dos 25E-NBOHs e seus derivados. O espectro de massas do 25E-NBOH 2AC pode ser observado na Figura 13 (p. 25).

Figura 13 - Espectro de massas 25E-NBOH 2AC

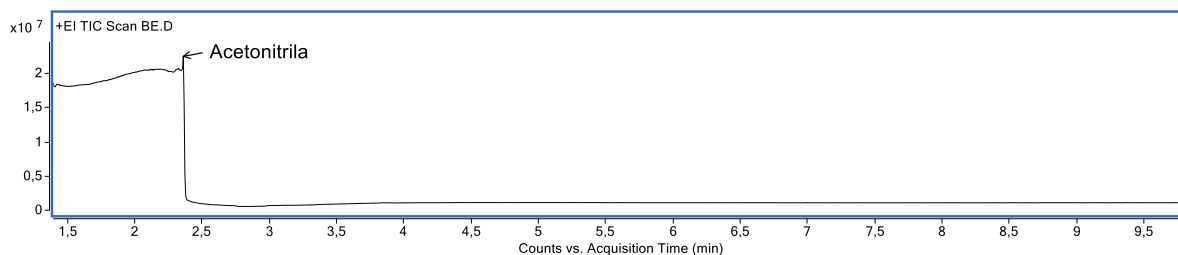


Fonte: Acervo pessoal (2022)

- Análise do produto da síntese em Acetonitrila

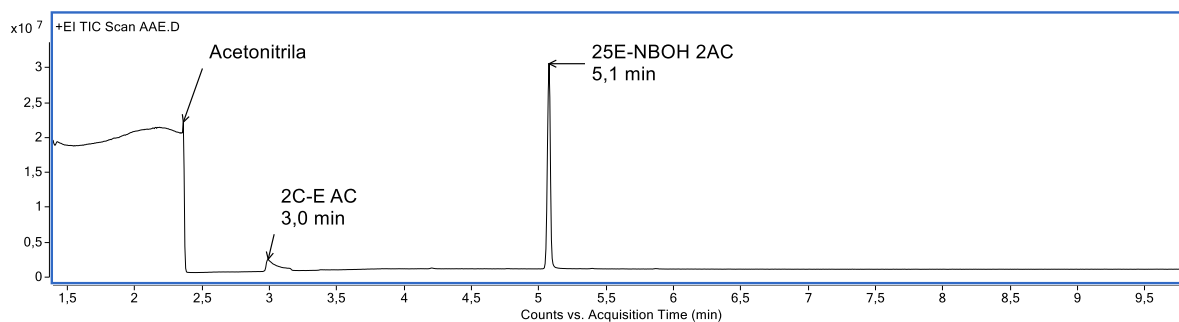
Da mesma forma como havia sido procedido utilizando o metanol como solvente, a comparação entre os cromatogramas obtidos antes e após a adição do reagente de derivatização (ambos em acetonitrila) permitiu constatar que um novo composto foi obtido quando o reagente de derivatização foi utilizado: na Figura 14 (p. 25) é apresentado o cromatograma antes do processo de derivatização e a Figura 15 (p. 26) mostra o cromatograma após o processo de derivatização.

Figura 14 - Cromatograma da injeção pré-derivatização em acetonitrila



Fonte: Acervo pessoal (2022)

Figura 15 - Cromatograma da injeção após derivatização em acetonitrila

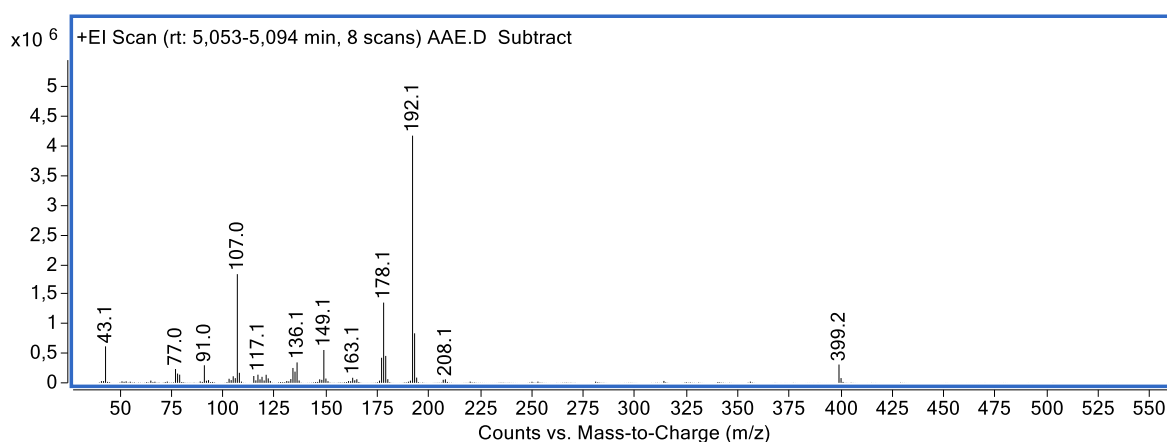


Fonte: Acervo pessoal (2022)

Observou-se em ambos os cromatogramas que devido à mudança no solvente utilizado, o *solvente delay* não foi capaz de suprimir o pico correspondente ao solvente na análise.

Analisando o cromatograma, representado na Figura 14 (p. 25), esperava-se um pico em 2,3 minutos que corresponde ao tempo de retenção observado para o 2C-E na Figura 11 (p. 23), entretanto esse pico foi sobreposto pelo pico do solvente acetonitrila, identificado utilizando a biblioteca NIST®. Observa-se no cromatograma da Figura 15 (p. 26) a formação de um pico em 5,1 minutos, supostamente 25E-NBOH 2AC, após adição do anidrido acético, assim como na injeção da síntese em metanol. Utilizando as bibliotecas disponíveis não foi possível realizar sua identificação, pois o composto não estava catalogado, entretanto foi observado a presença do íon de m/z 399 que é correspondente ao íon molecular do composto alvo da síntese. Além disso também observou a formação dos íons de m/z 192, 136 e 107 que são comumente encontrados durante a fragmentação dos 25E-NBOHs e seus derivados (FOGARTY et al., 2019). O Espectro de massas para o composto 25E-NBOH 2AC, pode ser visualizado na Figura 16 (p. 26).

Figura 16 - Espectro de massas para o composto 25E-NBOH 2AC



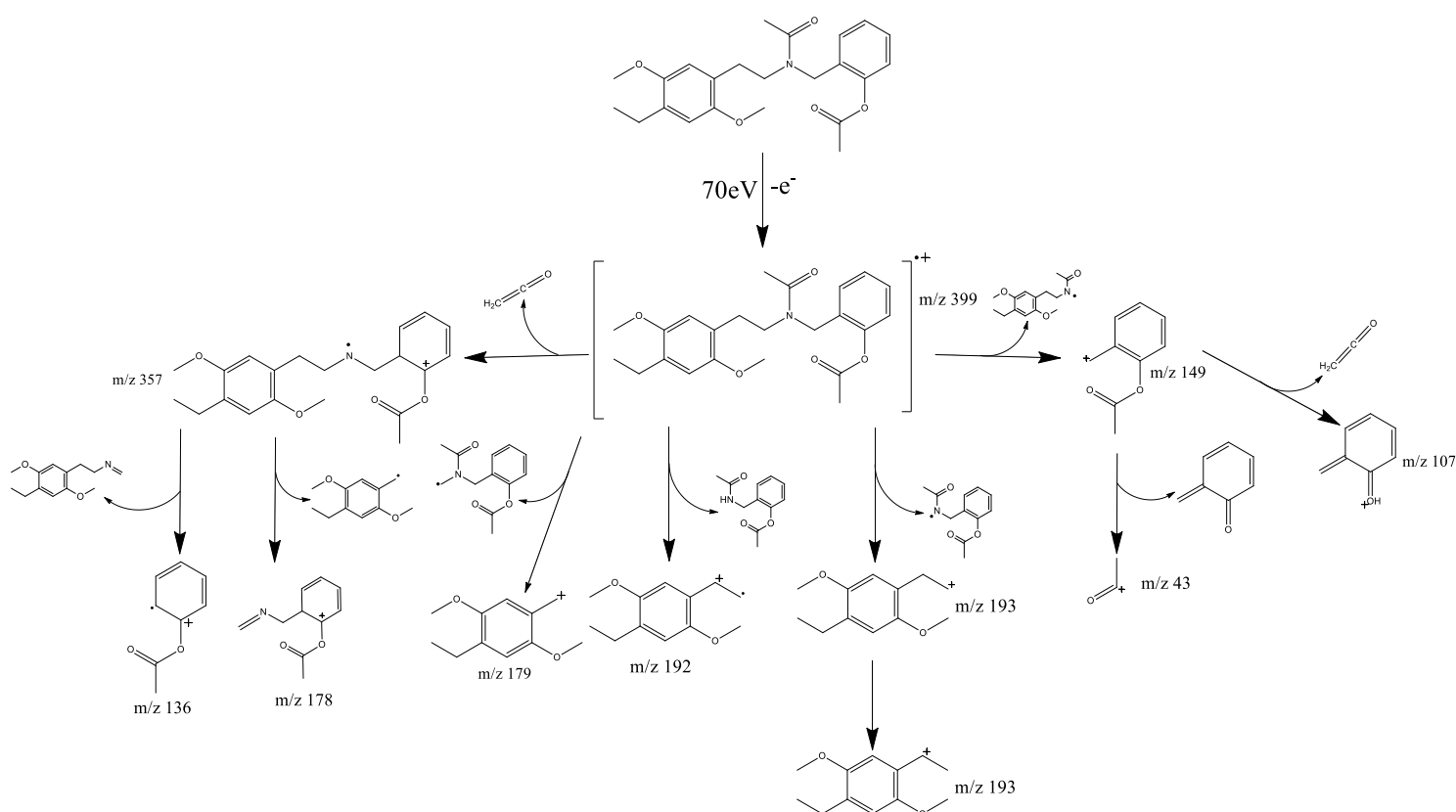
Fonte: Acervo pessoal (2022)

- Elucidação Estrutural

Não sendo possível realizar a identificação do composto obtido na reação de derivatização através da comparação de seu espectro de massas com o correspondente espectro de uma biblioteca comercial, foi realizado um estudo detalhado do mecanismo de fragmentação do espectro de massas obtido, visando interpretá-lo e, dessa forma, caracterizar o produto da reação de derivatização.

A Figura 17 (p. 27) apresenta a proposta de mecanismo de fragmentação do 25E-NBOH 2AC e a estrutura dos principais íons observados nos espectros de massas obtidos.

Figura 17 - Fragmentação proposta para o composto 25E-NBOH 2AC



Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

A partir do espectro de massas, Figura 13 (p.25) e Figura 16 (p. 26) é possível observar a formação do íon de m/z 399, esse íon conforme representado pela proposta de fragmentação é formado pela perda de um elétron não ligante ou elétron π . A partir do íon m/z 399 ocorrem uma série de fragmentações e rearranjos que dão origem aos fragmentos de menor m/z .

Analisando a estrutura do íon molecular presente na Figura 17 (p. 27) é possível observar vários carbonos saturados e um heteroátomo entre os dois anéis aromáticos da molécula, as rotações nas ligações simples permite que haja uma serie de conformações estáveis devido as interações intramoleculares sobretudo as interações do tipo π - π e dipolo-dipolo

permitindo a formação de radicais e cátions mais estáveis, o que contribuiu para diversidade de fragmentos da molécula (MCLAFFERTY; TURECEK, 1993).

A partir de rearranjos é possível observar a formação dos íons de m/z 136 e 178. Sobre essas espécies é possível observar que estas espécies estão diretamente relacionadas a formação do éster derivado da hidroxila fenólica o que relacionado a formação de m/z do íon molecular é um forte indicativo da formação do composto alvo.

Analisando o espectro de massas é possível observar a formação do pico base com m/z 192, ao correlacionar essa informação com a estrutura pode-se observar que o fragmento se trata de carbocátion secundário, o que favorece a estabilidade desse. Além disso esse fragmento é comum a espécie 2C-E, dessa forma é possível que ao sofrer a ionização em um ambiente de elevada temperatura o composto fragmente para formar seu precursor (MACHADO et al., 2020). O íon de m/z 193 apesar de massa próxima ao 192 ele é formado através de uma clivagem α , diretamente sobre o nitrogênio. Entretanto sua abundância é menor pois esse é um carbocátion primário, logo mais instável.

A partir de uma clivagem α também foi possível gerar o íon de m/z 149, a partir dele outros fragmentos podem surgir. Sendo assim é possível observar a formação dos íons de m/z 107 e 43, além da formação de um carbocátion secundário de m/z 149. O íon m/z 43 trata-se do carbocátion acila adicionado pela reação de derivatização, dessa forma além de originar através da fragmentação do íon m/z 149 também pode surgir através de outras fragmentações e clivagens α , o que contribui para sua maior abundância.

- Considerações sobre o processo

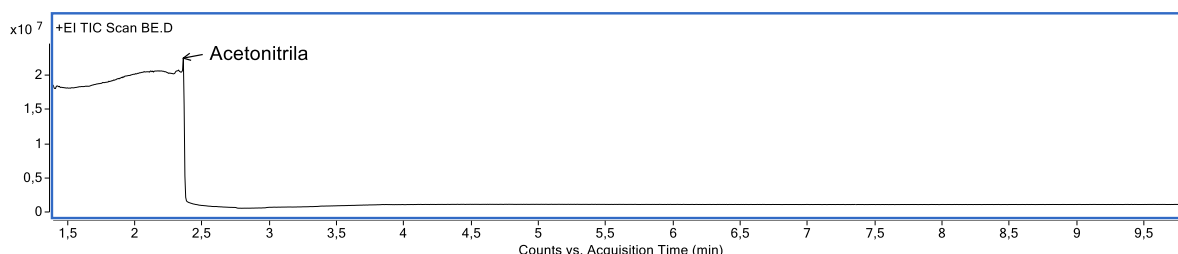
A partir dos resultados expostos é possível levantar considerações sobre a eficiência do processo. A síntese utilizando o metanol foi mais eficaz, uma vez que o pico cromatográfico possuiu maior área, o que pode ser correlacionado com a concentração do composto. Entretanto a síntese utilizando a acetonitrila produziu um cromatograma mais limpo. Apesar disso, o metanol é considerado um solvente menos tóxico e possui menor custo, sendo de mais fácil acesso. O anidrido acético possui uma menor reatividade que seus análogos halogenados, podendo ser empregado em meio alcoólico (BAKER; COUTTS; HOLT, 1994; LANÇAS, 2008).

4.1.1.2. Formação e caracterização do composto 25E-NBOH 2ATF

A reação utilizando o anidrido trifluoroacético não pôde ser realizada nos dois sistemas solventes, uma vez que o carbono carbonílico possui uma carga parcial positiva, dessa forma o reagindo com o oxigênio de hidroxila, por esse estar em maior quantidade, assim impedindo que a reação aconteça em meio de metanol (HAGENS et al., 1982).

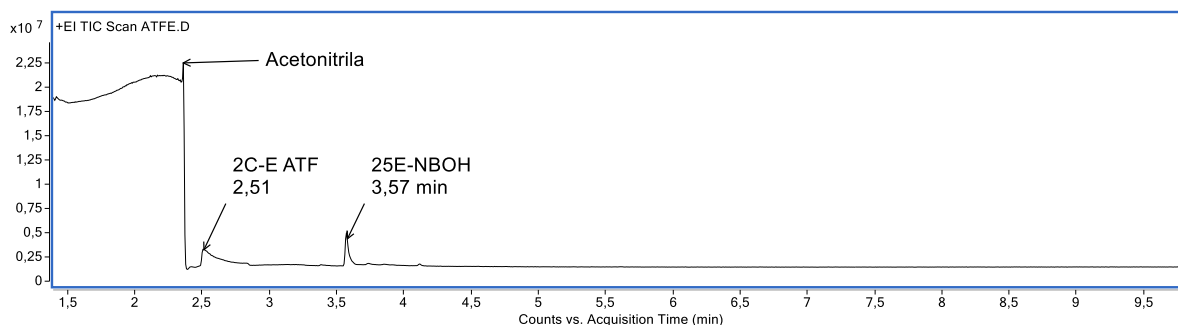
As soluções do composto antes e após a derivatização foram analisadas por GC-MS. Foram obtidos dois cromatogramas, que podem ser vistos nas figuras: Figura 18 (p. 29), que representa a amostra antes da adição do reagente de derivatização, e Figura 19 (p. 29), que representa a injeção da amostra após adição do reagente de derivatização.

Figura 18 - Cromatograma pré-derivatização em acetonitrila



Fonte: Acervo pessoal (2022)

Figura 19 - Cromatograma após derivatização em acetonitrila



Fonte: Acervo pessoal (2022)

Analisando o cromatograma anterior à adição do reagente de derivatização, pode-se observar apenas um pico solvente, o que indica que ocorreu uma coeluição do composto 2C-E e da acetonitrila, uma vez que o composto era esperado em 2,3 minutos, como foi observado no cromatograma representado pela Figura 11 (p. 23).

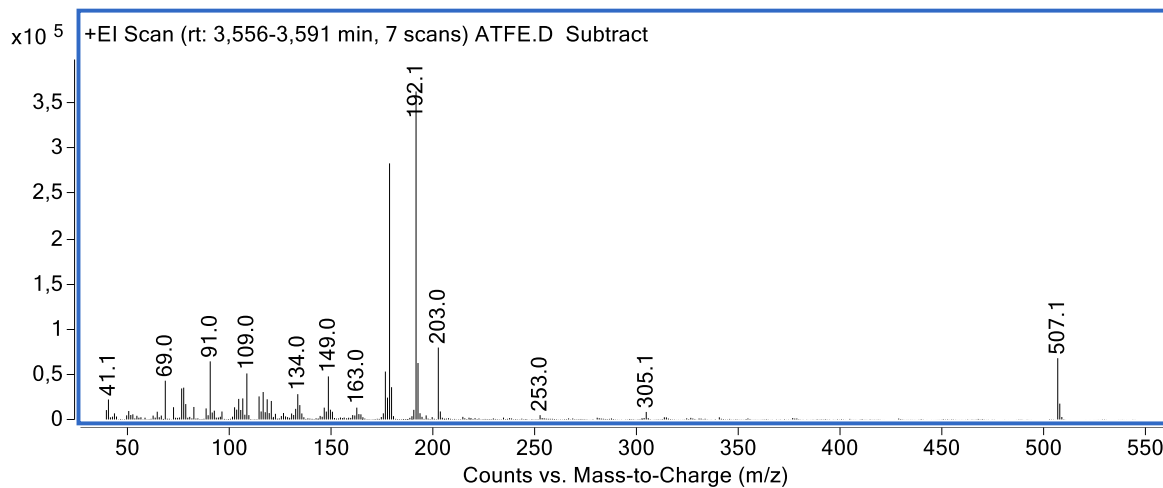
Ao analisar o cromatograma produzido após a adição do reagente de derivatização, pode-se observar a formação de dois picos cromatográficos um em 2,51 minutos e um em 3,57 minutos.

O primeiro foi identificado como 2C-E ATF, com compatibilidade de 79,0%, através da biblioteca NIST®. Isso pode ser causado pela reação incompleta com o analito o que levou a degradação parcial do composto durante a injeção.

A análise dos íons correspondentes ao segundo apresenta o íon de m/z 507, sendo este o íon molecular referente ao composto 25E-NBOH 2ATF, conforme pode ser observado na Figura 20 (p. 30), que representa o espectro de massas para o composto sintetizado em acetonitrila. Além do íon molecular é possível observar a formação do íon de m/z 192, que é um íon característico da fragmentação do 25E-NBOH e seus derivados (FOGARTY et al.,

2019), além do íon de m/z 91, conhecido como íon tropílio e que é característico de anéis aromático substituídos (SILVERSTEIN et al., 2015).

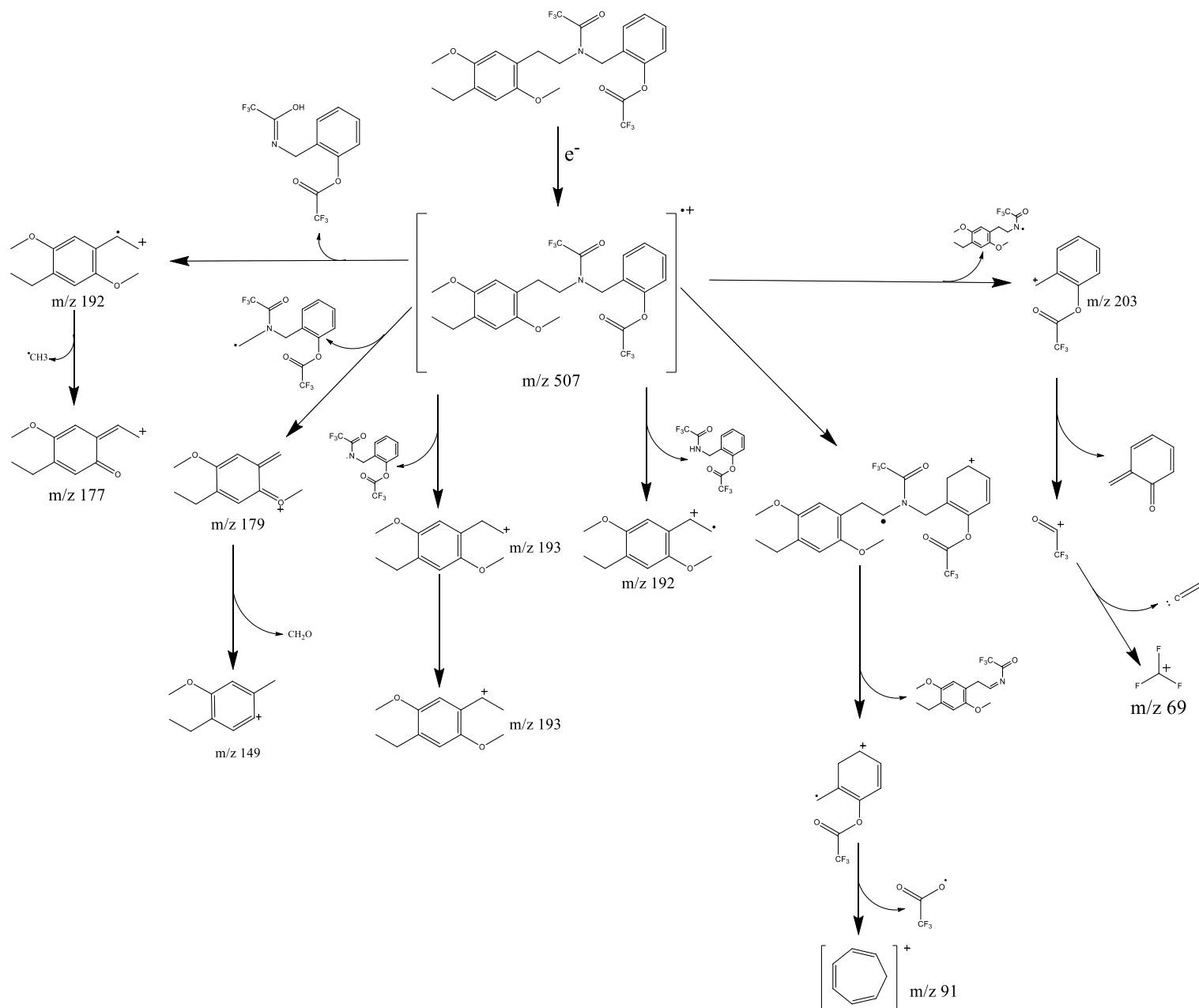
Figura 20 - Espectro de Massas para o composto 25E-NBOH 2ATF



Fonte: Acervo pessoal (2022)

Ao realizar a busca do composto através da biblioteca eletrônica da NIST, não foi possível encontrar um composto com espectro de massas semelhante. Dessa forma, foi proposto um mecanismo de fragmentação visando identificar elucidar a estrutura da substância sintetizada. Os principais fragmentos podem ser observados na Figura 21 (p. 31).

Figura 21 - Fragmentação proposta para o composto 25E-NBOH 2ATF



Analisando o Espectro de Massas presente na Figura 20 (p. 30) é possível observar a formação de diversos íons em comum com a Fragmentação do composto 25E-NBOH 2AC. Isso ocorre devido as reações ocorrerem com o mesmo substrato, variando apenas os grupos substituintes o que leva a m/z diferentes.

Além dos fragmentos apresentados anteriormente, houve a formação de um novo fragmento de m/z 149, esse fragmento teve sua origem através de uma quebra do fragmento de m/z 179 assim liberando um fragmento neutro de formaldeído. Apesar de não observar o íon referente ao carbocátion trifluoroacetila foi possível detectar um fragmento de m/z 69 esse

fragmento está relacionado a formação do carbocátion trifluorometila originado pela perda de uma molécula de CO a partir do carbocátion trifluoroacetila.

Também foi possível observar a um rearranjo distinto foram formados dois íons de m/z 192. Entretanto um deles sofreu uma fragmentação o que eliminou um radical metila formando assim o íon de m/z 177.

Através dos resultados expostos é possível fazer algumas considerações sobre a eficiência do processo. Devido à elevada reatividade do anidrido trifluoroacético, a reação em metanol não foi possível ser realizada. Tomando por referência o tamanho do pico cromatográfico obtido, pode-se inferir que a síntese em acetonitrila não possui um elevado rendimento. Além disso, a acetonitrila não é um solvente verde e possui maior custo, o que restringe seu uso (LANÇAS, 2008).

4.1.2. Derivatização do composto 25C-NBOH

A Derivatização do composto foi realizada utilizando dois reagentes distintos, dessa forma gerando dois produtos distintos o 25C-NBOH diacetilado (25C-NBOH 2AC) e o 25C-NBOH ditrifluoroacetilado (25C-NBOH 2ATF)

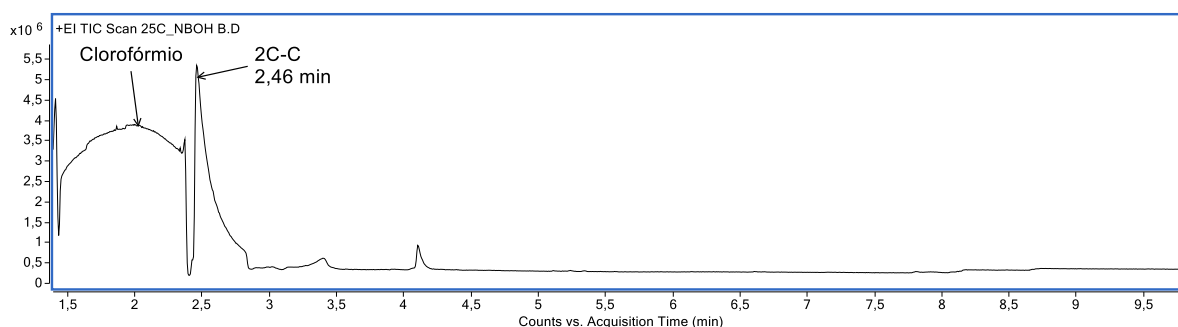
4.1.2.1. Formação e caracterização do composto 25C-NBOH 2AC

Seguindo o procedimento já relatado realizou-se as reações de derivatização, bem como a análise por GC-MS.

- Análise do produto da síntese em metanol

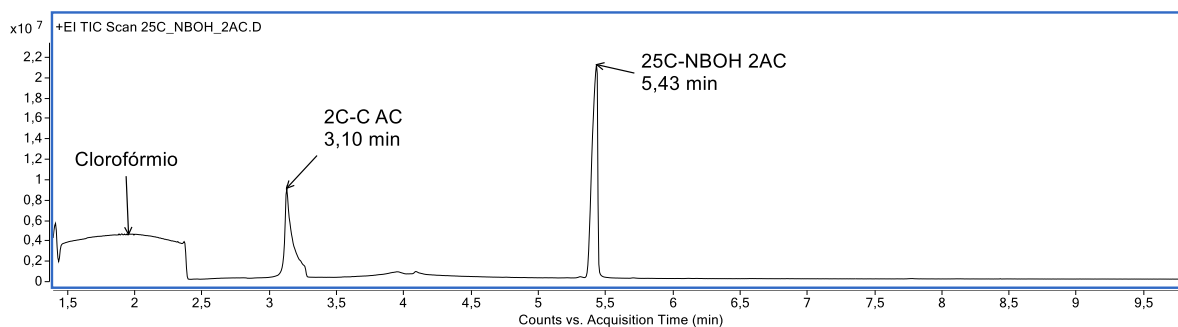
A partir da injeção da amostra antes e após a adição do reagente derivatizante, obteve-se dois cromatogramas, esses estão apresentados pela Figura 22 (p. 32), que representa a injeção da amostra anterior a adição do reagente derivatizante, e Figura 23 (p. 33), que representa a injeção da amostra após a adição do reagente derivatizante.

Figura 22 - Cromatograma anterior a adição do reagente derivatizante



Fonte: Acervo pessoal (2022)

Figura 23 - Cromatograma após a adição do reagente derivatizante



Fonte: Acervo pessoal (2022)

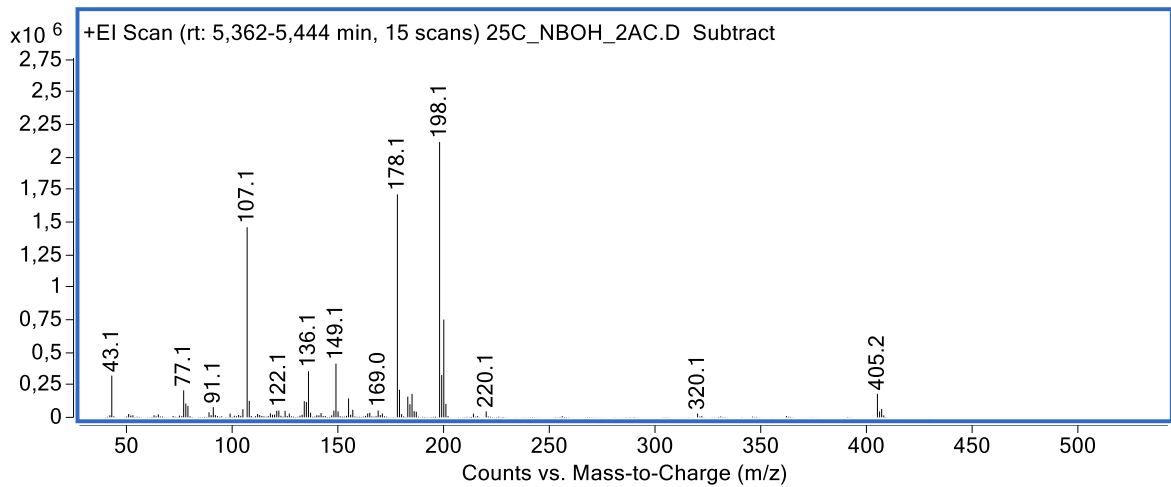
Observou-se em ambos os cromatogramas que entre 1,3 minutos e 2,38 minutos a formação de um pico alargado causado pela presença de clorofórmio, que foi identificado através da comparação com a biblioteca NIST. O clorofórmio foi utilizado em uma etapa prévia cujo objetivo era retirar corantes e açúcares presentes nos selos utilizados como amostras. A presença persistente do clorofórmio pode estar relacionada com a alta capacidade absorvente do papel mata borrão. Parte do clorofórmio impregnado no papel teria sido transferido para a fase metanólica. Além disso, observou-se a formação de um pico em 2,46 minutos, pico esse formado pelo composto 2C-C, identificado através da biblioteca NIST® com 82,7% de compatibilidade, proveniente da degradação térmica do 25C-NBOH (MACHADO et al., 2020).

O cromatograma obtido após a adição do reagente derivatizante apresentou dois picos: um em 3,10 minutos e outro em 5,43 minutos.

O pico presente em 3,10 minutos, foi identificado como 2C-C AC, através da busca a biblioteca NIST® com compatibilidade de 87,2%. Esse composto é produto da reação entre o 2C-C e o anidrido acético. Sua formação pode estar relacionada com a degradação parcial do 25C-NBOH que não reagiu no processo de derivatização e que sofreu degradação durante a corrida cromatográfica.

O segundo pico, presente em 5,43 minutos apresentou um íon molecular compatível com o composto alvo de síntese. Também neste caso, não houve correspondência entre seu espectro de massas e os espectros das bibliotecas eletrônicas disponíveis. Entretanto no espectro de massas obtido apresentado pela Figura 24 (p. 34), pode-se observar a formação do íon de m/z 405. Além do íon molecular detectou-se os íons de m/z 198, 178 e 107, esses íons são característicos dos compostos 25C-NBOH e seus derivados (FOGARTY et al., 2019).

Figura 24 - Espectro de Massas 25C-NBOH 2AC obtido em meio de metanol

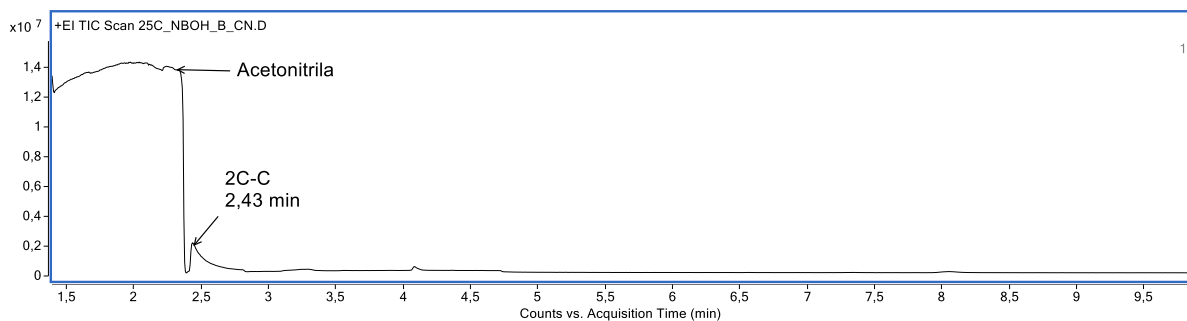


Fonte: Acervo pessoal (2022)

- Análise do produto da síntese em acetonitrila

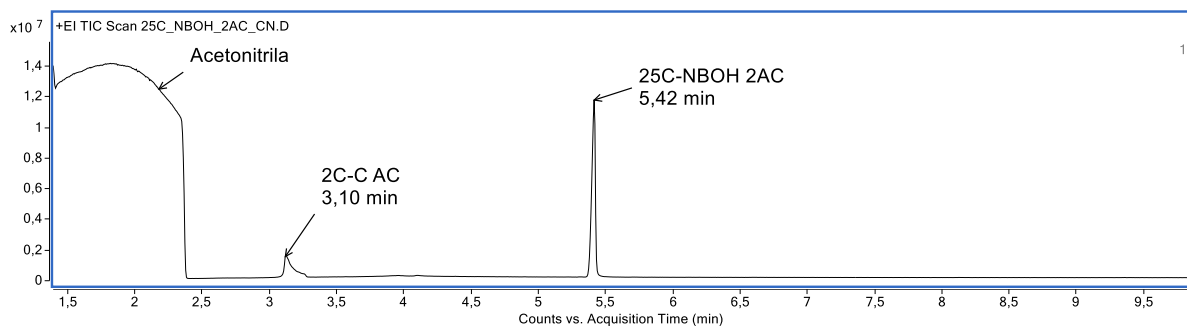
As corridas cromatográficas, antes e após a reação de derivatização em meio de acetonitrila, forneceram dois cromatogramas, apresentados na Figura 25 (p. 34), que representa a amostra anterior a adição do reagente derivatizante, e Figura 26 (p. 34), que representa a amostra após a adição do reagente derivatizante.

Figura 25- Cromatograma da injeção anterior a adição do reagente derivatizante



Fonte: Acervo pessoal (2022)

Figura 26 - Cromatograma da injeção após a adição do reagente derivatizante



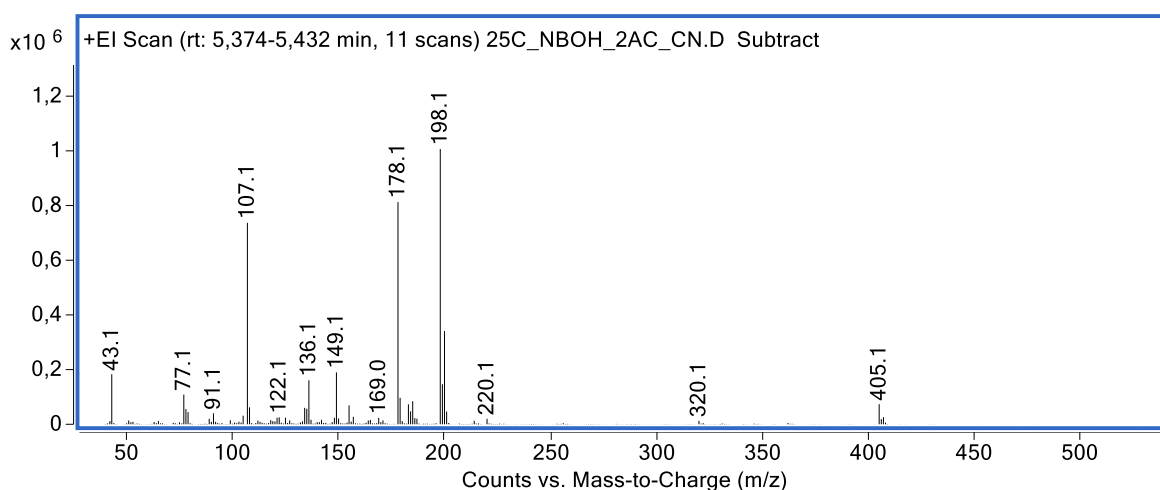
Fonte: Acervo pessoal (2022)

Observa-se em ambos os cromatogramas, nos tempos de retenção entre 1,3 minutos e 2,38 minutos, a formação de um pico alargado devido à presença de acetonitrila, identificado através da biblioteca NIST®. No cromatograma anterior à reação de derivatização, houve formação de um pico em 2,43 minutos, identificado como 2C-C, utilizando as bibliotecas NIST® com compatibilidade de 82,7%, sendo esse é um produto de degradação térmica do 25C-NBOH. Observou-se no segundo cromatograma a formação de dois picos cromatográficos, um deles em 3,10 minutos e outro em 5,42 minutos.

O primeiro pico observado em 3,10 minutos, Figura 26 (p. 34), foi identificado como 2C-C AC, através da biblioteca NIST® com compatibilidade de 89,2%, indicando que houve uma degradação parcial do produto derivatizado ou que a reação de derivatização foi incompleta ou que o produto decompôs no câmara de injeção.

O segundo pico cromatográfico observado em 5,42 minutos, supostamente 25C-NBOH 2AC, Figura 26 (p. 34) não gerou combinação positiva (*match*) com os espectros das bibliotecas eletrônicas disponíveis. Entretanto ao analisar o espectro de massas correspondente, apresentado pela Figura 27 (p. 35), observou-se a formação do íon de m/z 405, um indicativo para a formação do 25C-NBOH 2AC. Além do íon molecular detectou-se os íons de m/z 198, 178 e 107, esses íons são característicos dos compostos 25C-NBOH e seus derivados (FOGARTY et al., 2019).

Figura 27 - Espectro de massas para o composto 25C-NBOH 2AC



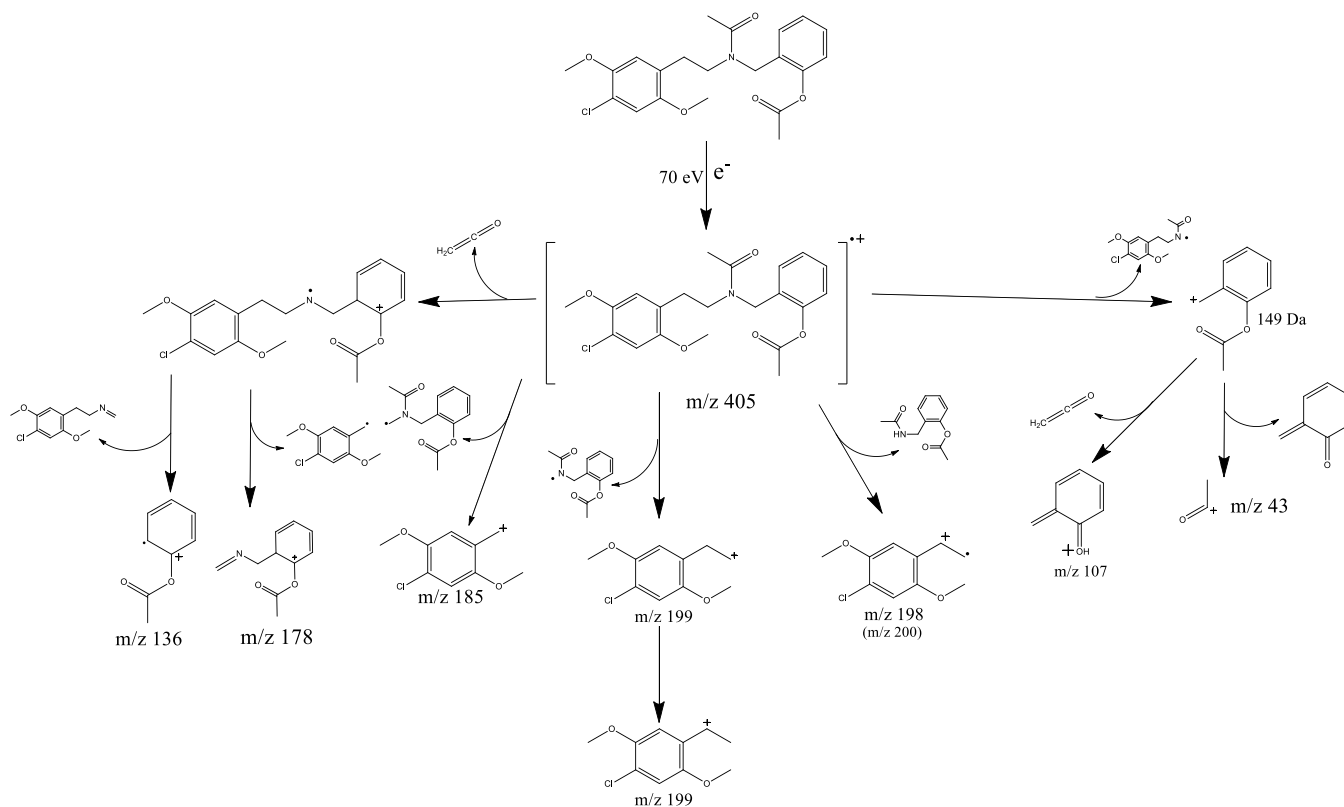
Fonte: Acervo pessoal (2022)

- Elucidação Estrutural

Uma vez que não foi possível identificar o composto de interesse através da comparação com as bibliotecas eletrônicas disponíveis, foi proposto um mecanismo de fragmentação do

25E-NBOH 2AC. Os principais fragmentos obtidos no espectro de massas estão apresentados na Figura 28 (p. 36).

Figura 28 - Proposta de Fragmentação para o composto 25C-NBOH 2AC



Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Os compostos 25C-NBOH e 25E-NBOH se diferenciam pela mudança do grupo substituído na posição 4 do anel aromático. Sendo assim a variação entre os fragmentos obtidos ocorre em grande parte na massa do fragmento, o que resulta na variação da m/z do íon detectado. Dessa forma a maior parte dos íons é formado através do descrito anteriormente para o composto 25E-NBOH 2AC.

Detectou-se um íon de m/z 200, que não havia sido observado anteriormente, esse fragmento é proveniente do isótopo de 37 do cloro, uma vez que a abundância desse fragmento é aproximadamente 1/3 da abundância do fragmento de m/z 198.

- Considerações sobre o processo

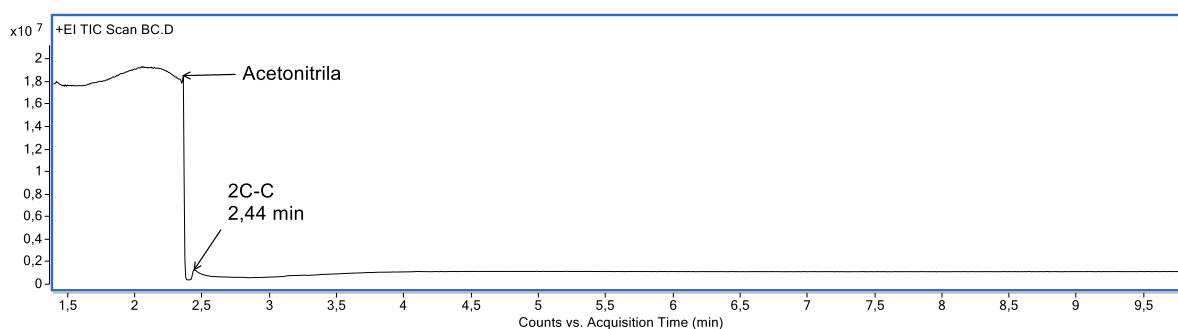
A comparação entre as reações de derivatização nos dois sistemas de solventes permitiu constatar que a síntese em meio metanólico foi capaz de produzir uma maior quantidade do composto derivatizado, o que pode ser correlacionado a um sinal de maior área. Observou-se também que o papel mata borrão utilizado como suporte da substância psicoativa absorveu parte do clorofórmio utilizado na etapa de extração dos corantes e açúcares presentes nos selos.

4.1.2.2. Formação e caracterização do composto 25C-NBOH 2ATF

A síntese do composto somente pode ser realizada em meio de acetonitrila, uma vez que devido à elevada reatividade do anidrido trifluoroacético, a reação em meio metanólico fica inviabilizada uma vez que o solvente pode reagir com o anidrido (HAGENS et al., 1982).

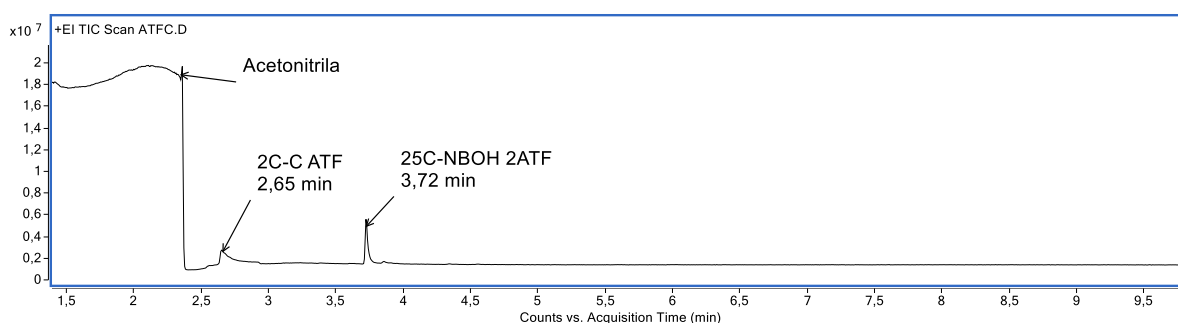
Dois cromatogramas foram obtidos nas análises cromatográficas. Eles estão representados nas Figura 29 (p. 37), que representa a amostra anterior a adição do reagente derivatizante, e Figura 30 (p. 37), que representa a amostra posterior a adição do reagente derivatizante.

Figura 29 - Cromatograma da amostra anterior a adição de derivatizante



Fonte: Acervo pessoal (2022)

Figura 30 - Cromatograma da amostra posterior a adição de derivatizante



Fonte: Acervo pessoal (2022)

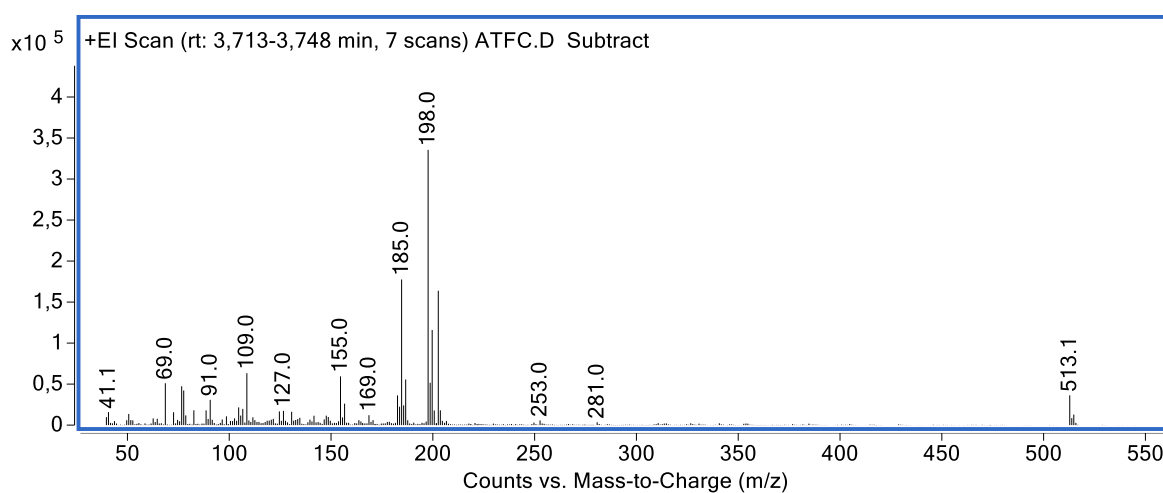
Nos dois cromatogramas obtidos, pode-se observar um pico alargado de solvente (acetonitrila) entre 1,30 minutos e 2,38. No primeiro cromatograma, Figura 29 (p. 37), houve a formação de um pequeno pico em 2,44 minutos, identificado como correspondente à substância 2C-C, identificado através das bibliotecas NIST® com compatibilidade de 75,3% , formado devido à degradação térmica do 25C-NBOH.

O primeiro composto obtido no cromatograma da Figura 30 (p. 37), eluído em 2,65 minutos, foi identificado como 2C-C ATF, com compatibilidade de 82,0%, através da biblioteca NIST®. Esse composto foi formado, possivelmente, por alguma dentre as seguintes possibilidades: degradação térmica do produto alvo da síntese, através da reação entre o anidrido trifluoroacético e o produto degradação térmica do composto ou devido à presença do

2C-C (presente na amostra devido às falhas na síntese do 25C-NBOH nos laboratórios clandestinos onde é sintetizado) e que teria reagido com o anidrido trifluoroacético.

O segundo composto eluído em 3,72 minutos, supostamente 25C-NBOH 2ATF, presente no segundo cromatograma, Figura 30 (p. 37), não possuiu compatibilidade (*match*) com os compostos presentes nas bibliotecas eletrônicas disponíveis. No entanto, observou-se a formação do íon de m/z 513 no espectro de massas. Este íon correspondente ao íon molecular do composto alvo da síntese, conforme pode-se observar na Figura 31 (p. 38), que representa o espectro de massas para o composto alvo da reação de derivatização.

Figura 31 - Espectro de Massas para o composto 25C-NBOH 2ATF



Fonte: Acervo pessoal (2022)

Uma vez que não foi possível identificar o composto através da pesquisa junto às bibliotecas eletrônicas do GC-MS, foi proposto um mecanismo de fragmentação do composto visando confirmá-lo. Os principais fragmentos obtidos no espectro de massas do produto da reação de derivatização estão apresentados na Figura 32 (p. 39).

detectado. Dessa forma a maior parte dos íons é formado através do descrito anteriormente para o composto 25E-NBOH 2ATF.

Detectou-se um íon de m/z 200, que não havia sido observado anteriormente, esse fragmento é proveniente do isótopo de 37 do cloro, uma vez que a abundância desse fragmento é aproximadamente 1/3 da abundância do fragmento de m/z 198. Também foi detectado um íon de m/z 155, esse fragmento é um produto da degradação do íon de m/z 185 através da eliminação de uma molécula neutra de formaldeído (SILVERSTEIN et al., 2015).

Através do exposto, foi possível avaliar o processo de derivatização utilizando o reagente anidrido trifluoracético. Apesar de ocorrer a formação do composto 2C-C trifluoroacetilado, não houve a formação do composto 25C-NBOH mono-trifluoroacetilado, indicando que ocorreu uma reação completa. Apesar de a acetonitrila se mostrar eficiente como solvente, este não é considerado um solvente verde e, além disso, possui maior custo em relação ao metanol. No entanto, como o metanol é capaz de reagir com o anidrido trifluoracético, isso se torna um fator limitante, restringindo seu uso (BAKER; COUTTS; HOLT, 1994; HAGENS et al., 1982; LANÇAS, 2008).

4.2. Planejamento Experimental

O planejamento experimental realizado teve como objetivo avaliar as melhores condições para a derivatização, entretanto não incluiu o anidrido trifluoracético, uma vez que esse apresentou incompatibilidade com o metanol. Por tal motivo, apenas o anidrido acético foi avaliado.

Os resultados obtidos para a área dos picos cromatográficos estão descritos na Tabela 6 (p. 41), que relaciona os fatores empregados para cada experimento assim como a área obtida através da integração do pico cromatográfico.

Tabela 6- Resultados obtidos para o planejamento experimental 2^{5-1}

Experimento	Tempo	Quantidade de Analito	Analito	Volume Reagente	Solvente	Área
1	-1	-1	-1	-1	1	1493630
2	1	-1	-1	-1	-1	4066768
3	-1	1	-1	-1	-1	5764073
4	1	1	-1	-1	1	1080413
5	-1	-1	1	-1	-1	1488721
6	1	-1	1	-1	1	123013
7	-1	1	1	-1	1	191726
8	1	1	1	-1	-1	1818738
9	-1	-1	-1	1	-1	5290721
10	1	-1	-1	1	1	1398656
11	-1	1	-1	1	1	1251756
12	1	1	-1	1	-1	10122497
13	-1	-1	1	1	1	47457
14	1	-1	1	1	-1	1024176
15	-1	1	1	1	-1	4281791
16	1	1	1	1	1	151638
17	-1	-1	-1	-1	1	743401
18	1	-1	-1	-1	-1	3988004
19	-1	1	-1	-1	-1	6228257
20	1	1	-1	-1	1	1991417
21	-1	-1	1	-1	-1	615517
22	1	-1	1	-1	1	330916
23	-1	1	1	-1	1	458688
24	1	1	1	-1	-1	1161713
25	-1	-1	-1	1	-1	6896979
26	1	-1	-1	1	1	1052295
27	-1	1	-1	1	1	1213801
28	1	1	-1	1	-1	11492436
29	-1	-1	1	1	1	53638
30	1	-1	1	1	-1	1630802
31	-1	1	1	1	-1	1646500
32	1	1	1	1	1	213852

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Ao realizar a análise multivariada utilizando o software Statistica®, foi possível concluir com 95% de confiança ($\alpha = 0,05$) que apenas a variável tempo não foi significativa uma vez que o p-valor para o teste de hipótese foi maior que 0,05, isso indica que a área do pico cromatográfico teve pouca variação entre os níveis altos e baixos. Os Efeitos e dados do teste de hipóteses relacionados aos fatores do planejamento experimental 2^{5-1} com duplicatas podem ser conferidos através da Tabela 7 (p. 42).

Tabela 7 - Efeitos e dados do teste de hipóteses relacionados aos fatores do planejamento experimental 2^{5-1} com duplicatas

Variáveis	Efeito	Erro Padrão	t(16)	p	Coef.	Erro Padrão
Média	2478562	120294,1	20,6042	0,000000	2478562	120294,1
(1) Tempo	248792	240588,2	1,0341	0,316467	124396	120294,1
(2)Quantidade de Analito	1176538	240588,2	4,8903	0,000163	588269	120294,1
(3)Analito	-3052264	240588,2	-12,6867	0,000000	-1526132	120294,1
(4)Volume de Reagente	1014000	240588,2	4,2147	0,000658	507000	120294,1
(5)Solvente	-3482587	240588,2	-14,4753	0,000000	-1741294	120294,1
1 por 2	625722	240588,2	2,6008	0,019309	312861	120294,1
1 por 3	-539941	240588,2	-2,2443	0,039312	-269971	120294,1
1 por 4	551671	240588,2	2,2930	0,035733	275836	120294,1
1 por 5	-137780	240588,2	-0,5727	0,574823	-68890	120294,1
2 por 3	-600237	240588,2	-2,4949	0,023920	-300118	120294,1
2 por 4	445906	240588,2	1,8534	0,082358	222953	120294,1
2 por 5	-1012752	240588,2	-4,2095	0,000665	-506376	120294,1
3 por 4	-656397	240588,2	-2,7283	0,014883	-328199	120294,1
3 por 5	1970459	240588,2	8,1902	0,000000	985229	120294,1
4 por 5	-1142764	240588,2	-4,7499	0,000217	-571382	120294,1

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Dessa forma, buscando simplificar a análise dos efeitos principais, foi proposto um novo planejamento fatorial 2^{4-1} utilizando os resultados obtidos para o nível alto da variável tempo. O novo planejamento fatorial empregado está representado na Tabela 8 (p. 42).

Tabela 8 - Planejamento experimental 2^{4-1}

Experimento	Quantidade de Analito	Analito	Volume Reagente	Solvente	Área
2	-1	-1	-1	-1	4066768
4	1	-1	-1	1	1080413
6	-1	1	-1	1	123013
8	1	1	-1	-1	1818738
10	-1	-1	1	1	1398656
12	1	-1	1	-1	10122497
14	-1	1	1	-1	1024176
16	1	1	1	1	151638
18	-1	-1	-1	-1	3988004
20	1	-1	-1	1	1991417
22	-1	1	-1	1	330916
24	1	1	-1	-1	1161713
26	-1	-1	1	1	1052295
28	1	-1	1	-1	11492436
30	-1	1	1	-1	1630802
32	1	1	1	1	213852

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Após o processamento dos dados no novo planejamento de experimentos, obteve-se todos os fatores principais significativos ($\alpha = 0,05$), como esperado. A redução no número de efeitos de interação de segunda ordem significativos se deve a estrutura das aliases em um planejamento fracionado 2^{4-1} . Os Efeitos e dados do teste de hipóteses relacionados aos fatores do planejamento experimental 2^{4-1} com duplicatas podem ser conferidos através da Tabela 9 (p. 43).

Tabela 9 - Efeitos e dados do teste de hipóteses relacionados aos fatores do planejamento experimental 2^{4-1} com duplicatas

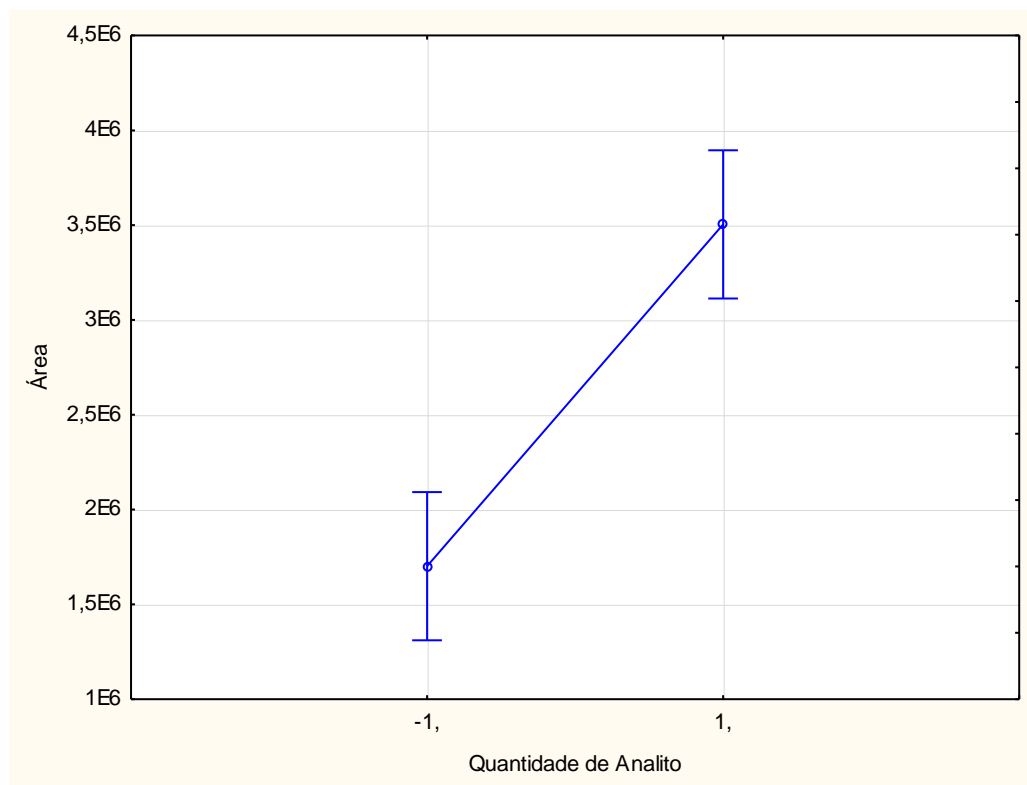
Variável	Efeito	Erro Padrão	t(8)	p	Coef.	Erro Padrão
Média	2602958	119889,3	21,7113	0,000000	2602958	119889,3
(1)Quantidade de Analito	1802259	239778,6	7,5163	0,000068	901130	119889,3
(2)Analito	-3592205	239778,6	-14,9813	0,000000	-1796102	119889,3
(3)Volume de Reagente	1565671	239778,6	6,5297	0,000182	782836	119889,3
(4)Solvente	-3620367	239778,6	-15,0988	0,000000	-1810183	119889,3
1 por 2	-1743001	239778,6	-7,2692	0,000086	-871500	119889,3
1 por 3	2416364	239778,6	10,0775	0,000008	1208182	119889,3
1 por 4	-1669149	239778,6	-6,9612	0,000117	-834575	119889,3

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Buscando visualizar os resultados das áreas de forma mais didática utilizou-se os gráficos das médias ajustadas, que permitem uma comparação clara através de um segmento de reta.

Para avaliar as médias ajustadas para os níveis baixos e altos da quantidade de analito construiu-se o gráfico apresentado pela Figura 33 (p. 44).

Figura 33 - Gráfico das médias ajustadas para a quantidade de analito

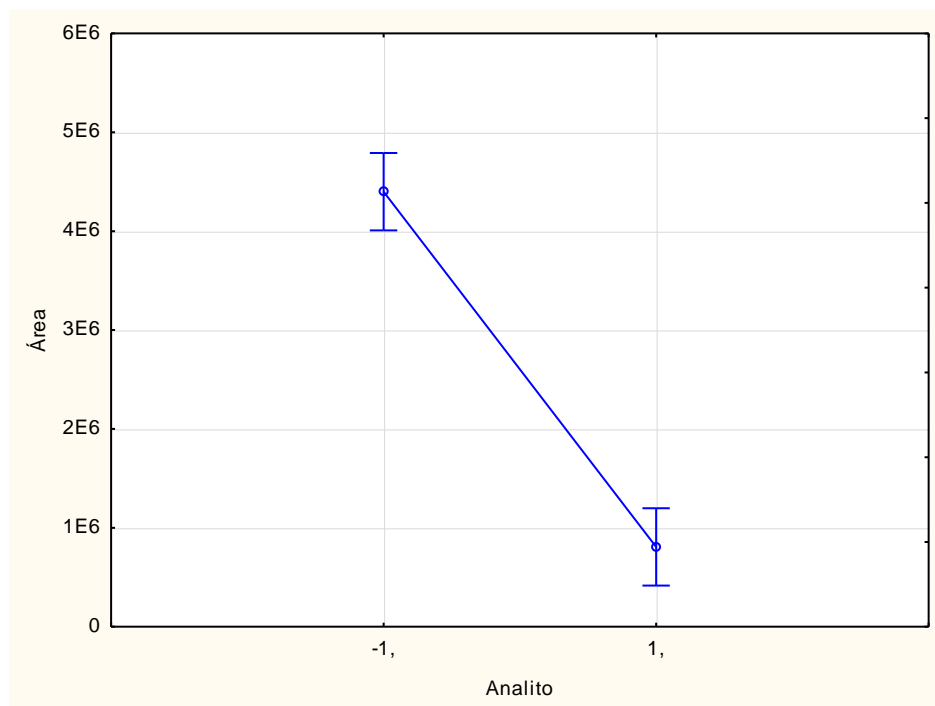


Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Analisando o gráfico é possível observar que as médias ajustadas para o nível alto, independentemente do analito, uso de 5 microsselos, produziu um maior sinal cromatográfico. Esse efeito pode ser explicado uma vez que uma maior concentração dos reagentes pode induzir uma maior formação dos produtos, devido a maior disponibilidade de moléculas para a reação.

Para avaliar as médias ajustadas para os níveis baixos e altos do analito construiu-se o gráfico representado pela Figura 34 (p. 45).

Figura 34 - Gráfico das médias ajustadas para o analito

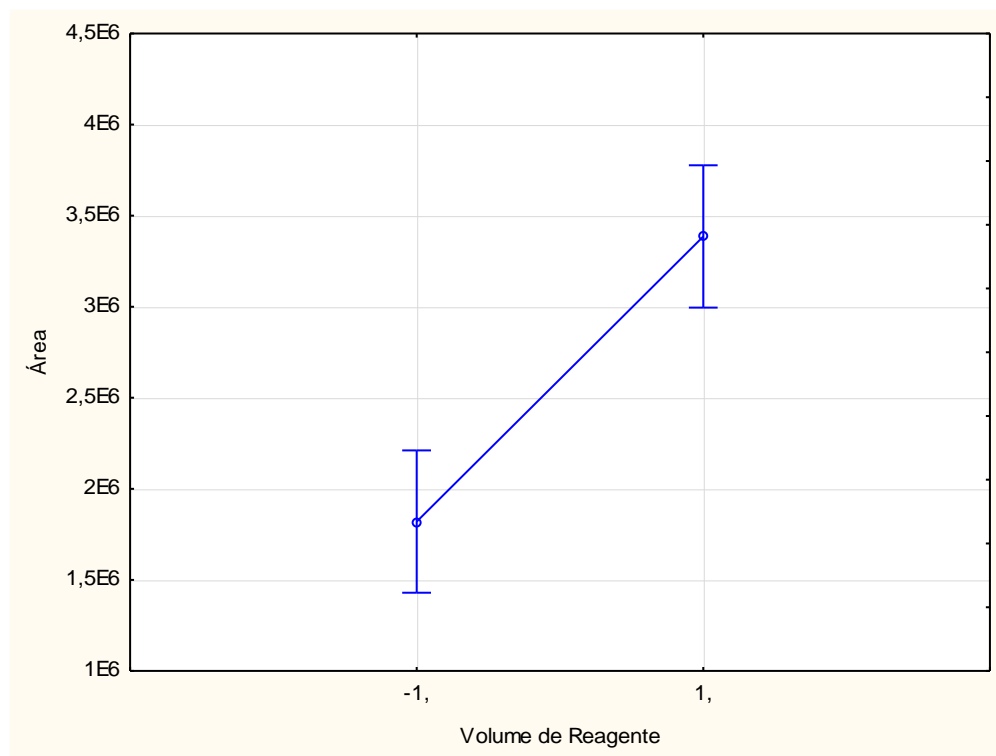


Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Analisando o gráfico das médias ajustadas é possível observar que o nível baixo, analito 25E-NBOH, produziu um maior sinal do pico cromatográfico. Isso pode ocorrer uma vez que as amostras foram provenientes de diferentes fornecedores e por se tratar de um produto ilícito, logo sem regulamentação, não há um controle da concentração das soluções aplicadas nos papéis mata-borrões, uma vez que os sítios de derivatização são os mesmos.

Para avaliar as médias ajustadas para os níveis baixos e altos de volume de reagente construiu-se o gráfico representado pela Figura 35 (p. 46).

Figura 35 - Gráfico das médias ajustadas para o volume de reagente

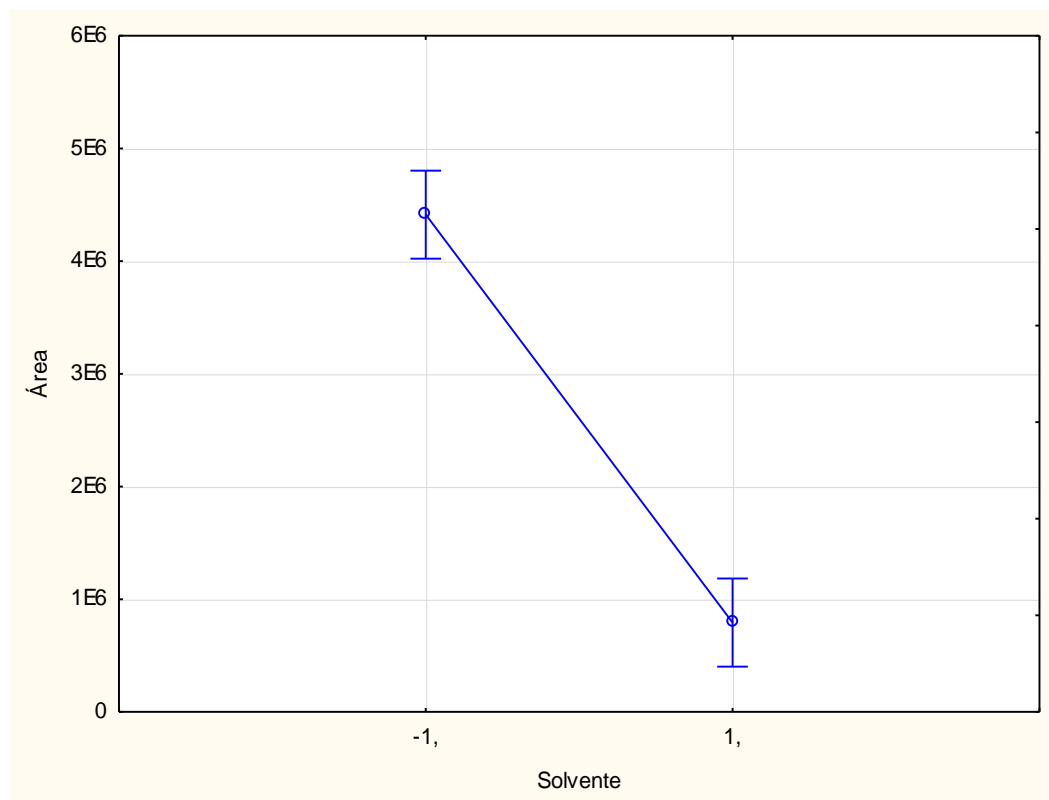


Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Através do gráfico das médias ajustadas é possível observar que o nível alto, adição de 100 μL do reagente, provocou o aumento do sinal do pico cromatográfico. Entretanto analisando o erro associado à medida, pode-se observar que a diferença entre os dois níveis, apesar de significativa, não foi elevada. Essa variação pode estar relacionada à concentração dos reagentes, uma vez que em uma solução diluída a probabilidade de encontro efetivo entre as moléculas é menor.

Para avaliar as médias ajustadas para os níveis baixos e altos da solvente construiu-se o gráfico representado pela Figura 36 (p. 47).

Figura 36 - Gráfico das médias ajustadas para o solvente



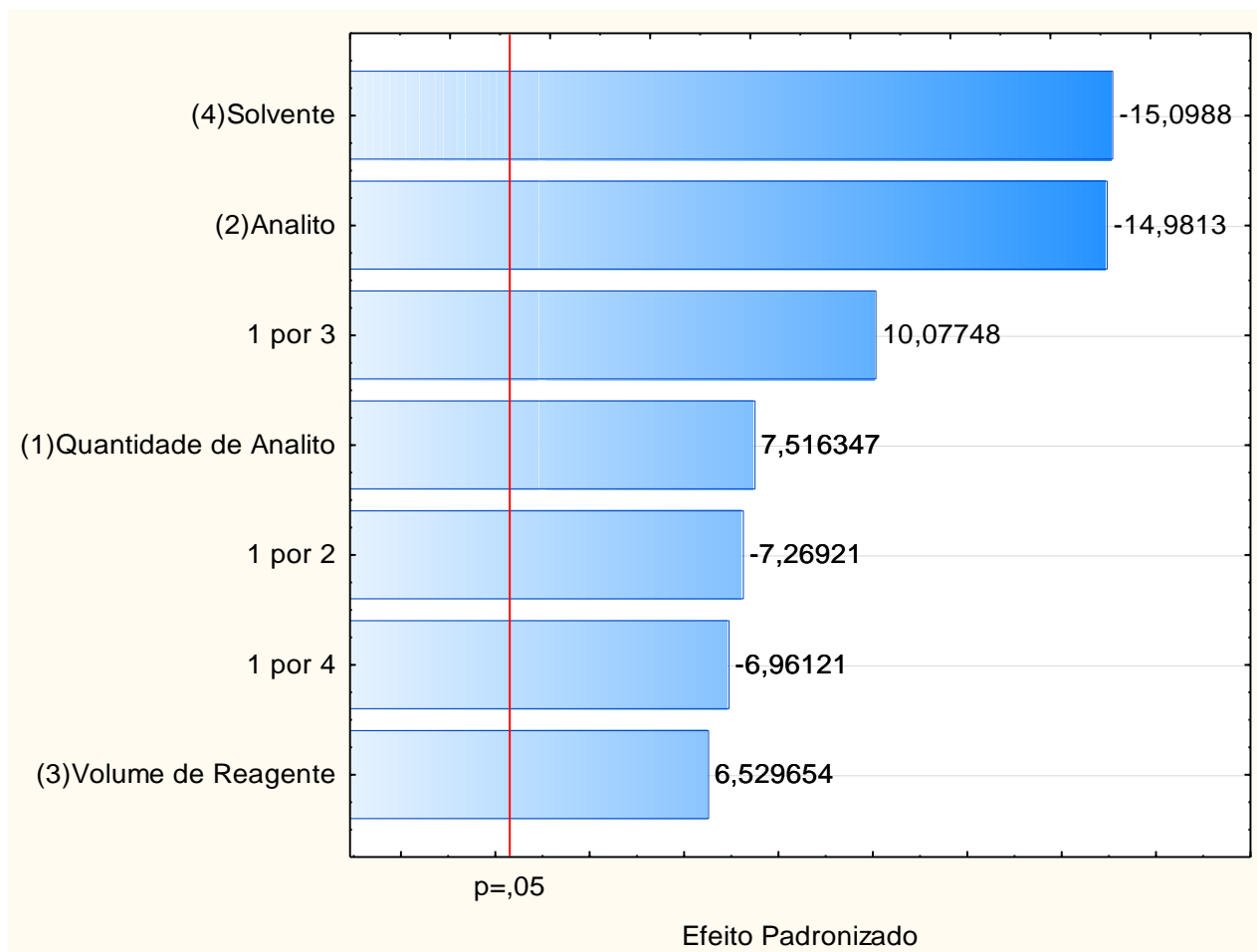
Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

É possível observar analisando o gráfico das médias ajustadas que o nível baixo para a variável solvente, síntese em meio de metanol, provocou um maior sinal do pico cromatográfico. Essa variação pode ser explicada pela presença de intermediários de reação, eletricamente carregados, comuns às reações envolvendo anidridos e, uma vez que o metanol é um solvente prótico polar, possui maior capacidade de estabilizar espécies carregadas através da solvatação. Além disso o metanol é um solvente de maior polaridade o que favorece a extração dos substratos (SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER, 2016a, 2016b).

A partir do exposto, é possível estabelecer os parâmetros para a melhor condição para se realizar a reação de derivatização: metanol como solvente, 25E-NBOH como substrato, quantidade de cinco micro selos e 100 μ L do reagente de derivatização. Considerando os comportamentos gerais, pode-se citar o aumento da área do pico quando a quantidade de analito é maior devido a maior eficácia de extração dos substratos. Mesmo sendo simples de estimar, é importante avaliar experimentalmente esta condição, pois pode-se ter situações em que ambos os níveis são responsáveis por elevados rendimentos de extração dos substratos, sendo estatisticamente iguais.

Buscando comprovar a significância estatística ($\alpha = 0,05$) dos efeitos dos fatores relacionados ao planejamento 2^{4-1} , com duplicata, elaborou-se o gráfico representado pela Figura 37 (p. 48).

Figura 37 - Gráfico de pareto dos Efeitos Padronizados



Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Avaliando o gráfico de pareto é possível determinar com 95% de confiança que todos os efeitos principais e os efeitos de interação de segunda ordem foram significativos com base no coeficiente limite 2,31, expresso pela linha vermelha, pôde-se constatar que os fatores principais são significativos, como previsto por meio dos testes de hipótese (teste t). Contudo com relação aos efeitos de interação de segunda ordem, a estrutura de aliases limita sua interpretação.

Comparativamente, a Figura 37 (p. 48) evidencia efeitos mais elevados para os fatores principais Analito e Solvente, indicando que a substituição de 25C-NBOH por 25E-NBOH e a substituição de acetonitrila por metanol foram mais representativas para aumentar a área média dos picos dos supostos produtos. Estima-se que o aumento na quantidade de microsselos e no

volume dos reagentes usados possa elevar o efeito dos fatores quantidade de analito e de solvente, respectivamente, garantindo maiores áreas dos picos dos supostos produtos

Entre as variáveis significativas avaliadas no planejamento, duas são qualitativas, solvente e analito, e duas são quantitativas, quantidade de analito e volume de reagente. Para construir um modelo otimizado foi necessário realizar um planejamento 2^2 , entretanto, não foi possível estabelecer modelos com elevada eficiência, capazes de gerar superfícies de resposta com alto poder preditivo.

Para ensaios futuros, sugere-se construir o planejamento utilizando as condições supracitadas, pode-se também empregar um tempo maior que 11 minutos para verificar se essa variável realmente não é significativa. Uma vez que as melhores condições para as variáveis qualitativas são conhecidas, pode-se realizar um planejamento experimental 2^3 utilizando apenas variáveis quantitativas, reduzindo o número de experimentos necessários para a quantificação.

5. CONCLUSÃO

Através do presente trabalho desenvolver e otimizar metodologias de derivatização de substâncias da classe das fenetilaminas conhecida como 25R-NBOH, para análises por GC-MS.

Observou-se que a reação de derivatização possuiu maior eficiência utilizando o anidrido acético como reagente de derivatização (dentre os reagentes testados). Além disso a síntese em meio de metanol foi capaz de gerar sinais mais intensos, entretanto o cromatograma gerado não possuía uma linha base limpa. Esse efeito é devido a extração de compostos presentes no papel que não foram totalmente removidos pela lavagem em clorofórmio. Possivelmente aumentando as lavagens ou o tempo de lavagem o cromatograma terá uma linha base mais limpa.

Observou-se que a síntese utilizando o anidrido trifluoracético foi pouco eficaz, uma vez que apresentou incompatibilidade com o solvente prótico e o sinal cromatográfico teve baixa intensidade quando comparado ao anidrido acético.

A partir disso, utilizando o planejamento fatorial 2^{4-1} , foi possível encontrar as melhores condições experimentais das reações de derivatização: substrato 25E-NBOH, volume de reagente 100 μ L, solvente metanol e uso de cinco microsselos. Outrossim, observou-se que dentre as variáveis e condições estudadas apenas a variável tempo não foi significativa para a resposta do sinal analítico. Entretanto realizando um estudo com tempos superiores a 11 min pode ser possível encontrar condições que gerem variações significativas entre os níveis baixo e alto.

Ressalta-se também que o processo empregado se apresentou bastante versátil e eficiente por permitir a realização das análises de identificação química das NPS's em curto tempo, baixo custo, temperatura ambiente e em microescala, contribuindo assim para a segurança do operador, menor impacto ambiental e resultados confiáveis.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Em relação às perspectivas futuras para continuação do trabalho, propõe-se realizar um novo planejamento experimental e estudar apenas as variáveis quantitativas, visando obter um modelo matemático que represente as melhores condições experimentais, que permita otimizar e aumentar a confiabilidade nos resultados obtidos através das análises de identificação da série 25R-NBOH, em análises forenses. Somado ao supracitado, sugere-se também o uso da técnica de varredura de calorimetria diferencial, visando estudar a temperatura de degradação dos compostos estudados como método auxiliar em suas identificações químicas.

Uma outra estratégia que poderia ser seguida é a utilização da técnica de índice de retenção linear para construção de um banco de dados que permita a identificação dos compostos sem o uso do espectrômetro de massas. Dessa forma, equipamentos de menor custo e que possuam apenas o detector FID poderiam ser empregados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, A.; RAMOS, A.; FERREIRA, J.; DA SILVA, M.; NERY, Vi; SOUZA, T.; RODRIGUES, I.; RODRIGUES, F.; SILVA, J. An Analysis of Toxic Alkaloids of Forensic Interest via Gas Chromatography. In: *Gas Chromatography: Analysis, Methods and Practices*. 1ed.: Nova Science Publishers, 2017, v. , p. 1-44. *In*: [s.l: s.n.]. p. 1–44.
- ANVISA. **Novas Substâncias Psicoativas (NSP) - Anvisa**. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/controlados/novas-substancias>. Acesso em: 8 mar. 2021.
- ARANTES, L. et al. 25I-NBOH: a new potent serotonin 5-HT(2A) receptor agonist identified in blotter paper seizures in Brazil. **Forensic toxicology**, [S. l.], v. 35, n. 2, p. 408–414, 2017. DOI: 10.1007/s11419-017-0357-x.
- BAKER, G. B.; COUTTS, R. T.; HOLT, A. Derivatization with acetic anhydride: Applications to the analysis of biogenic amines and psychiatric drugs by gas chromatography and mass spectrometry. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, [S. l.], v. 31, n. 3, p. 141–148, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/1056-8719\(94\)90076-0](https://doi.org/10.1016/1056-8719(94)90076-0).
- BRASIL. LEI Nº 11.343, DE 23 DE AGOSTO DE 2006. . 2006.
- CHAVANT, F.; BOUCHER, A.; BOISSELIER, R.; DEHEUL, S.; DEBRUYNE, D. New Synthetic Drugs in Addictovigilance. **Thérapie**, [S. l.], v. 70, p. 179–189, 2015. DOI: 10.2515/therapie/2015001.
- CHIARADIA, M.; COLLINS, C.; JARDIM, I. The state of the art of chromatography associated with the tandem mass spectrometry for toxic compound analyses in food. **Quimica Nova**, [S. l.], v. 31, n. 3, p. 623–636, 2008. DOI: 10.1590/s0100-40422008000300030.
- CIPRIANO, P. **Fenetilaminas: De Drogas de Abuso ao Uso Medicinal – Síntese, Propriedades Farmacológicas e Toxicológicas**. 2018. UFSJ, [S. l.], 2018.
- COELHO NETO, J.; ANDRADE, A.; LORDEIRO, R.; MACHADO, Y.; ELIE, M.; FERRARI JÚNIOR, E.; ARANTES, L. Preventing misidentification of 25I-NBOH as 2C-I on routine GC–MS analyses. **Forensic Toxicology**, [S. l.], v. 35, n. 2, p. 415–420, 2017. DOI: 10.1007/s11419-017-0362-0.
- CORAZZA, O.; PRILUTSKAYA, M. **Handbook of Novel Psychoactive Substances: What Clinicians Should Know About NPS**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.4324/9781315158082.
- DE ANDRADE, A. .. F. B.; ELIE, M.; WECK, C.; ZACCA, J. J.; DE SOUZA, M. P.; CALDAS, L. N. B.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, J. Challenges in the identification of new thermolabile psychoactive substances: The 25I-NBOH case. **Forensic Science International**,

[*S. l.*], v. 312, p. 110306, 2020. DOI: 10.1016/j.forsciint.2020.110306.

DEAN, B.; STELLPFLUG, S.; BURNETT, A.; ENGBRETSSEN, K. 2C or not 2C: phenethylamine designer drug review. **Journal of medical toxicology : official journal of the American College of Medical Toxicology**, [*S. l.*], v. 9, n. 2, p. 172–178, 2013. DOI: 10.1007/s13181-013-0295-x.

EL-HAJ, B.; AL-AMRI, A.; HASSAN, M.; ALI, H.; BIN KHADEM, R. The use of cyclohexanone as a “derivatizing” reagent for the GC-MS detection of amphetamines and ephedrine in seizures and the urine. **Forensic science international**, Ireland, v. 135, n. 1, p. 16–26, 2003. DOI: 10.1016/s0379-0738(03)00101-4.

FERRARI, E.; ARANTES, L.; SALUM, L.; CALDAS, E. Analysis of non-derivatized 2-(4-R-2,5-dimethoxyphenyl)-N-[(2-hydroxyphenyl)methyl]ethanamine using short column gas chromatography – mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [*S. l.*], v. 1634, p. 461657, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461657>.

FOGARTY, M.; LOGAN, B.; DIAMOND, F.; MICKOLAS, L.; SHUDA, S.; KROTULSKI, A. Letter to Editor — NBOH Derivatization for the Analysis of Seized Drug Casework. **Journal of Forensic Sciences**, [*S. l.*], v. 64, n. 3, p. 958–960, 2019. DOI: 10.1111/1556-4029.14064.

GROSS, J. H. **Mass Spectrometry: a Textbook**. 3. ed. Heidelberg: Springer, 2017. v. 3 DOI: 10.1007/978-3-642-10711-5.

HAGENS, A.; MILLER, T.; BYNUM, R.; KAPILA, V. Reaction of trifluoroacetic acid with alcohols, phenols, ethers, and their sulfur analogs. **The Journal of Organic Chemistry**, [*S. l.*], v. 47, n. 7, p. 1345–1347, 1982. DOI: 10.1021/jo00346a036.

HÜBSCHMANN, H. **Handbook of GC/MS : fundamentals and applications**. Third edit ed. [s.l.] : Wiley-VCH, 2015.

KYRIAKOU, C.; MARINELLI, E.; FRATI, P.; SANTURRO, A.; AFXENTIOU, M.; ZAAMI, S.; BUSARDÒ, F. NBOMe: New potent hallucinogens-pharmacology, analytical methods, toxicities, fatalities: A review. **European review for medical and pharmacological sciences**, [*S. l.*], v. 19, p. 3270–3281, 2015.

LANÇAS, F. M. Como economizar (ou eliminar o uso de) acetonitrila em tempos de “ crise ”? **Scientia chromatographica**, [*S. l.*], v. 1, p. 51–60, 2008.

LIN, D.; WANG, S.; WU, C.; CHEN, B.; LIU, R. Chemical derivatization for the analysis of drugs by GC-MS - A conceptual review. **Journal of Food and Drug Analysis**, [*S. l.*], v. 16, p. 10, 2008. DOI: 10.38212/2224-6614.2373.

MACHADO, Y.; COELHO NETO, J.; LORDEIRO, R.; ALVES, R.; PICCIN, E. Identification

of new NBOH drugs in seized blotter papers: 25B-NBOH, 25C-NBOH, and 25E-NBOH. **Forensic Toxicology**, [S. l.], v. 38, n. 1, p. 203–215, 2020. DOI: 10.1007/s11419-019-00509-7.

MCLAFFERTY, F. W.; TURECEK, F. **Interpretation of Mass Spectra**. 4. ed. Sausalito: University Science Book, 1993.

MCMMASTER, M. C. **GC/MS : a practical user's guide**. 2. ed. St. Louis: Wiley, 1999. v. 121 DOI: 10.1021/ja9857460.

MEIRA, V. L.; DE OLIVEIRA, A. S.; COHEN, L.; DE A. BHERING, C.; DE OLIVEIRA, K.; DE SIQUEIRA, D.; DE OLIVEIRA, M. M.; AQUINO NETO, F. Chemical and statistical analyses of blotter paper matrix drugs seized in the State of Rio de Janeiro. **Forensic Science International**, [S. l.], v. 318, p. 110588, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110588>.

SEBBEN, V. C. **Análise de efedrinas e anfetamina em urina empregando spe e spme por cg/em/em**. 2007. UFRGS, [S. l.], 2007.

SHULGIN, A. **PIHKAL: A Chemical Love Story**. 1. ed. [s.l.] : Transform Press, 1991.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D.; BRYCE, D. **Spectrometric identification of organic compounds**. 8. ed. [s.l.] : John Wiley & Sons, Inc., 2015.

SKOOG, D.; HOLLER, F.; NIEMAN, T. **Principles of Instrumental Analysis**. 7. ed. Boston: Cengage Learning, 2018.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B.; SNYDER, S. .. **Organic Chemistry**. 12. ed. [s.l.] : Wiley, 2016. a. v. 2

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B.; SNYDER, S. A. **Organic Chemistry**. 12. ed. [s.l.] : Wiley, 2016. b.

WUTS, P. G. M.; GREENE, T. W. **GREENE'S PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS**. 4. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2006.

ZACCA, J. J.; GIUDICE, G. H.; SOUZA, M. P.; CALDAS, L. N. B.; VIEIRA, M. L.; MACHADO, A. H. L. Development and validation of analytical method for identification of new psychoactive substances using linear retention indexes and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1636, p. 461783, 2021. DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461783.