



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Julia Carolina Soares

**Desenvolvimento e validação de metodologia cromatográfica para a
identificação do perfil químico de comprimidos do tipo *Ecstasy* apreendidos na
região de Joinville/SC**

Florianópolis

2023

Julia Carolina Soares

Desenvolvimento e validação de metodologia cromatográfica para a identificação do perfil químico de comprimidos do tipo *Ecstasy* apreendidos na região de Joinville/SC

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientador(a): Prof.(a) Dr.(a) Camila Marchioni
Coorientador(a): M. Sc. Suellen Pericolo

Florianópolis

2023

Soares, Julia Carolina

Desenvolvimento e validação de metodologia cromatográfica para a identificação do perfil químico de comprimidos do tipo Ecstasy apreendidos na região de Joinville/SC /Julia Carolina Soares ; orientador, Camila Marchioni, coorientador, Suellen Pericolo, 2023.

96 p.

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmacologia. 2. MDMA, MDA, Tráfico de drogas, CG-MS. I. Marchioni, Camila. II. Pericolo, Suellen. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. IV. Título.

Julia Carolina Soares

Desenvolvimento e validação de metodologia cromatográfica para a identificação do perfil químico de comprimidos do tipo *Ecstasy* apreendidos na região de Joinville/SC

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 30 de outubro de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra Camila Marchioni
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra Claudia Regina dos Santos
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr. Adriano Otávio Maldaner
Instituto Nacional de Criminalística, Departamento de Polícia Federal

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Farmacologia

Insira neste espaço a
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a
assinatura digital

Prof.(a) Camila Marchioni, Dra
Orientadora

Florianópolis, 2023.

Este trabalho é dedicado à minha família, que sempre me apoiou e me deu base para chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A toda a equipe de pesquisa do Laboratório de Química Forense do PCI/SRJOI: Suellen (minha coorientadora), Gisele, Tiago, Gustavo e Rodrigo. Por todo o apoio na realização dos experimentos e ajuda no andamento do trabalho.

A minha orientadora, a Professora Dra. Camila Marchioni, por todo apoio mesmo à distância e tranquilidade no decorrer da elaboração do projeto até o final da dissertação. Sua ajuda foi fundamental e suas pontuações me proporcionaram finalizar o trabalho de forma gratificante.

A todos os professores do curso que através de todo o ensinamento das aulas proporcionam um complemento excepcional a minha formação. A FAPESC pelo auxílio financeiro durante os meses designados.

A Paula, minha amiga querida que sempre me incentivou e acreditou em mim, por ter me ajudado em inúmeras ponderações que contribuíram para o trabalho. E aos meus demais amigos que compreenderam minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

A Malú, Nika e Tai, minhas colegas virtuais, que tornaram as aulas do mestrado muito mais divertidas e com muitos comentários edificantes. Obrigada por cruzarem o meu caminho e terem aberto as portas para o grupo de vocês.

Ao meu namorado Douglas, por todo apoio e incentivo. Por sempre me lembrar da minha dedicação e comprometimento. Você foi fundamental!

Aos meus pais, Antonio e Silvia, por todo o apoio e suporte, que muito contribuíram para a realização deste trabalho. Amo vocês!

RESUMO

Relatórios mundiais apontam para o crescimento do consumo e apreensão de drogas sintéticas, sendo as do tipo *ecstasy*, destaque no mercado brasileiro. Rotas sintéticas variadas com emprego de diferentes produtos químicos têm sido observadas nos laboratórios clandestinos desmantelados. No Brasil, quantidades crescentes de *ecstasy* vêm sendo apreendidas. Entre os anos de 2018 a 2020 ao menos oito laboratórios clandestinos foram desmantelados no território brasileiro com maior concentração de ocorrências nos estados do sul do país. Os resíduos de precursores, intermediários e impurezas de síntese, compõem o perfil químico dos comprimidos do tipo *ecstasy*, e trazem informações sobre o processo de fabricação. Determinar o perfil das impurezas nos comprimidos de *ecstasy* pode contribuir para potencial vinculação de origem e rota de síntese entre diferentes apreensões, bem como estabelecer conexões entre laboratórios clandestinos. O trabalho teve como objetivo desenvolver e validar a metodologia utilizada na Polícia Científica de Santa Catarina, em Joinville, para identificação do perfil químico dos comprimidos apreendidos como *ecstasy* (MDMA e MDA). Para as análises cromatográficas foi utilizado equipamento de cromatografia gasosa 7890A (Agilent®), sendo avaliada a temperatura de injeção, temperatura de linha de transferência, temperatura de fonte de íons, vazão do SPLIT e a rampa de temperatura. Para o preparo da amostra foi realizada uma LLE, sendo testadas as variáveis: solvente de extração, tempo de agitação, pH da solução tampão e massa do comprimido. O método foi validado com base nos guias da ANVISA, UNODC e SWGTOX, e assim, os parâmetros de precisão, seletividade, *carryover* e estabilidade foram definidos. Por fim, o método foi aplicado em comprimidos tipo *ecstasy* provenientes da casuística do laboratório. O melhor perfil de cromatograma foi obtido com uma rampa de 50°C por 2 min, 10°C/min até 290°C e 290°C por 4 min, com um tempo total de corrida de 38min. O preparo da amostra definido foi de 50 mg do comprimido triturado, adicionado de 1 mL do tampão carbonato 0,1M pH 12.5, agitação durante 1 min, 1mL de acetato de etila, agitação por mais 1 min, centrifugação a 4000 rpm durante 4 min e o sobrenadante é injetado no GC-MS. O método se mostrou preciso (com valores de coeficiente de correlação inferior a 15%), seletivo (sem picos interferentes ao analisar excipientes), sem efeito residual (*carryover*) e as amostras foram estáveis por 15 dias após a trituração. A metodologia foi testada em casos reais envolvendo comprimidos com o mesmo desenho, 3 deles obtiveram o mesmo perfil e 2 deles eram divergentes, contribuindo para a hipótese de vinculação de origem de fabricação. O perfil cromatográfico obtido ao final da metodologia proposta apresentou mais informações relacionadas ao perfil químico em comparação ao atual método implementado na rotina do laboratório, de forma a acrescentar informações sobre a composição e rota de síntese dos comprimidos apreendidos, e assim, contribuir para auxiliar na inteligência policial no estudo de rotas de tráfico dessas substâncias.

Palavras-chave: Tráfico de Drogas; GC-MS; MDMA; MDA.

ABSTRACT

Worldwide reports point to the growth in the consumption and seizure of synthetic drugs, with the ecstasy type being the highlight in the Brazilian market. Varied synthetic routes using different chemicals were observed in dismantled clandestine laboratories. In Brazil, increasing quantities of ecstasy have been seized. Between 2018 and 2020, at least eight clandestine laboratories were dismantled in Brazilian territory, with the highest concentration of incidents in the southern states of the country. The residues of precursors, intermediates and synthetic impurities, make up the chemical profile of ecstasy tablets, and provide information about the manufacturing process. Determining the profile of impurities in ecstasy tablets can contribute to a potential link of origin and route of properties between different seizures, as well as establishing connections between clandestine laboratories. The aim of the work was to develop and validate the methodology used by the Scientific Police of Santa Catarina, in Joinville, to identify the chemical profile of pills seized as ecstasy (MDMA and MDA). For chromatographic analysis, 7890A gas chromatography equipment (Agilent®) was used, and the injection temperature, transfer line temperature, ion source temperature, SPLIT flow rate and temperature ramp were evaluated. To prepare the sample, an LLE was carried out, testing the variables: extraction solvent, stirring time, pH of the buffer solution and tablet mass. The method was validated based on ANVISA, UNODC and SWGTOX guidelines, and thus, the precision, selectivity, carryover and stability parameters were defined. Finally, the method was applied to ecstasy-type tablets from the laboratory sample. The best chromatogram profile was obtained with a ramp of 50°C for 2 min, 10°C/min to 290°C and 290°C for 4 min, with a total run time of 38min. The defined sample preparation was 50 mg of the crushed tablet, added with 1 mL of 0.1 M carbonate buffer pH 12.5, shaking for 1 min, 1 mL of ethyl acetate, shaking for another 1 min, centrifugation at 4000 rpm for 4 min and the supernatant is injected into the GC-MS. The method proved to be accurate (with correlation coefficient values below 15%), selective (no interfering peaks when analyzing excipients), no residual effect (carryover) and the samples were stable for 15 days after crushing. The methodology was tested in real cases involving tablets with the same design, 3 of them obtained the same profile and 2 of them were divergent, contributing to the hypothesis of manufacturing origin linkage. The chromatographic profile obtained at the end of the proposed methodology presented more information related to the chemical profile in comparison to the current method implemented in the laboratory routine, in order to add information about the composition and synthesis route of the seized tablets, and thus, contribute to assist in the police intelligence in the study of trafficking routes for these substances.

Keywords: Drug trafficking; GC-MS; MDMA; MDA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do MDMA, MDEA e do MDA.....	16
Figura 2 – Síntese de MDMA a partir de MDP2P por aminação redutiva	19
Figura 3 – Síntese de MDMA a partir do Safrol, Isosafrol e Reação de Leuckart.....	20
Figura 4 – Síntese do MDA a partir do Piperonal, Helional e Safrol.....	21
Figura 5 – Comparação das impurezas identificadas na síntese do MDA a partir do Helional e do Piperonal	22
Figura 6 – Resumo das variáveis testadas para o preparo da amostra	35
Figura 7 – Cromatogramas das análises de aprimoramento cromatográfico em GC-MS das amostras de <i>ecstasy</i>	42
Figura 8 – Comparação entre os cromatogramas das metodologias com e sem ultrassom em GC-MS durante a etapa de preparação de amostras de comprimidos de <i>ecstasy</i>	53
Figura 9 – Cromatograma das variações 4 (5min), 5 (3min) e 6 (1min) respectivamente em relação ao tempo de vórtex para as amostras de <i>ecstasy</i> para análise em GC-MS	58
Figura 10 – Análise dos diferentes pHs na preparação de amostra de comprimidos de <i>ecstasy</i>	63
Figura 11 – Análise da massa da amostra em relação a quantidade de grupos de íons (picos de interesse) em amostras de <i>ecstasy</i> analisados em GC-MS	65
Figura 12 – Método final para preparação de amostra de <i>ecstasy</i> por GC-MS	68
Figura 13 – Cromatogramas plotados de uma amostra do <i>pool</i> de <i>ecstasy</i> (cor preta) comparado com uma amostra de solvente acetato de etila (cor azul), estearato de magnésio (cor verde) e celulose (cor vermelha) em análise de GC-MS.....	72
Figura 14 – Cromatogramas do acetato de etila 1 (12a), acetato de etila 2 (12b) e acetato de etila 3 (12c), amostra da configuração 10 (12d) respectivamente	73
Figura 15 – Distribuição geográfica das apreensões dos comprimidos de <i>ecstasy</i> com desenho “CNN” no mapa de Santa Catarina.....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparativo dos artigos com metodologia para identificação do perfil dos comprimidos do tipo <i>ecstasy</i> com LLE e análise em GC-MS	25
Tabela 2 – Condições cromatográficas testadas para o aprimoramento das análises de <i>ecstasy</i> no GC-MS.....	33
Tabela 3 – Tempos de agitação testados nas análises de <i>ecstasy</i> na preparação de amostra para posterior análise em GC-MS	37
Tabela 4 – Comparação dos íons sugestivos do programa AMDIS e dos íons descritos na literatura para as substâncias monitoradas nas amostras de <i>ecstasy</i>	50
Tabela 5 – Picos presentes nos cromatogramas das análises com diferentes solventes para extração das substâncias de interesse a partir da análise em GC-MS	56
Tabela 6 – Picos cromatográficos das amostras de acetato de etila em relação ao tempo de agitação em 3 variações diferentes a partir da análise em GC-MS.....	58
Tabela 7 – Comparação do preparo da amostra do presente estudo, artigos da literatura e da metodologia inicial da PCI/SRJ01 para análise de <i>ecstasy</i> em GC-MS.....	69
Tabela 8 – Comparação dos CV (%) entre os ensaios de precisão intradia e interdía para os <i>pools</i> 1 e 2	71
Tabela 9 – Análise da estabilidade pré-processamento através da porcentagem de alteração da área nos tempos 7, 15 e 30 dias em relação ao tempo zero	79
Tabela 10 – Porcentagem da variação dos tempos 12, 24 e 48 horas das análises de estabilidade pós diluição em relação a área dos picos no tempo 0	80
Tabela 11 - Comparação da análise de 5 diferentes apreensões de comprimidos de <i>ecstasy</i> com o mesmo desenho (CNN) em relação a detecção dos picos de interesse em análise no GC-MS	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
2C-I	2,5-dimetoxi-4-iodo-feniletilamina
5-MeO-AMT	5-metoxi- α -metil-triptamina
5-MeO-DIPT	5-metoxi-N,N-di-isopropil-triptamina
5-MeO-MIPT	5-metoxi-N,N-metil-isopropil-triptamina
AMT	α -metil-triptamina
BZP	1-benzilpiperazina
CP 47,497	2,3-hidroxicicloexil-5-(2-metiloctanil)-fenol
CV	Coeficiente de variação
DHMA	3,4-dihidroximetilanfetamina
DOMA	3,4-dimetoxi-5-hidroxifenilacético
EI	Ionização por elétrons do inglês Electron ionization
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa do inglês Gas chromatography–mass spectrometry
JWH-018	1-pentil-3-(1-naftoil)indol
JWH-073	1-naftoil(1-butilindolil)metanona
LLE	Extração líquido-líquido, do inglês Liquid-liquid extraction
M	Molar
MA	Metanfetamina
mCPP	1-(3-clorofenil)piperazina
MBDB	N-metil-1-(1,3-benzodioxol-5-il)-2-butanamina
MDA	3,4-metilenodioxianfetamina
MDDMB	3,4-metilenodioxo-N, N-dimetilbenzilamina
MDEA	3,4-metilenodioxietilanfetamina
MDMA	3,4-metilenodioximetanfetamina
MDP2P	3,4-metilenodioxifenilpropan-2-ona
MeOPP	1-(4-metoxifenil)-piperazina
mg	Miligrama
mL	Mililitros
μ L	Microlitro
NaBH ₄	Borohidreto
NaBH ₃ CN	Cianoborohidreto
PCI/SRJOI	Superintendência Regional de Polícia Científica em Joinville
POP	Procedimento Operacional Padrão
PMK	3,4-metilenodioxifenilpropan-2-ona
PMK glicidato	3,4-MDP-2-P metil glicidato
PMK ácido glicídico	3,4-MDP-2-P metil ácido glicídico
rpm	Rotação por minuto
SWDRUG	Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs
TFMPP	1-(3-trifluorometilfenil)-piperazina
TR	Tempo de retenção

LISTA DE SÍMBOLOS

® Marca registrada
% Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	DROGAS SINTÉTICAS	15
1.2	PERFIL FÍSICO-QUÍMICO E A INTELIGÊNCIA POLICIAL.....	17
1.3	ROTAS DE SÍNTESE	19
1.4	ANÁLISE DOS COMPRIMIDOS DO TIPO ECSTASY	24
1.5	MDMA E MDA.....	28
2	OBJETIVOS	31
2.1	OBJETIVO GERAL	31
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
3.1	REAGENTES E AMOSTRAS.....	32
3.2	APRIMORAMENTO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO (GC) E DAS CONDIÇÕES DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS (MS)	32
3.3	PREPARO DA AMOSTRA.....	35
3.3.1	Ultrassom	36
3.3.2	Solvente.....	36
3.3.3	Agitação.....	36
3.3.4	Solução tampão (pH)	37
3.3.5	Massa do comprimido	37
3.4	VALIDAÇÃO	38
3.4.1	Precisão.....	38
3.4.2	Seletividade.....	39
3.4.3	Efeito residual (<i>Carryover</i>)	39
3.4.4	Estabilidade.....	39
3.5	ANÁLISE DOS DADOS	40
3.6	APLICABILIDADE DA TÉCNICA	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
4.1.1	Aprimoramento do método cromatográfico (GC) e das condições da espectrometria de massas (MS).....	42
4.1.2	Preparo da amostra	52
4.1.2.1	<i>Ultrassom</i>.....	52

4.1.2.2	<i>Solvente</i>	56
4.1.2.3	<i>Tempo de agitação</i>	57
4.1.2.4	<i>Solução tampão</i>	62
4.1.2.5	<i>Massa do comprimido</i>	65
4.1.3	Validação do método	70
4.1.3.1	<i>Precisão</i>	70
4.1.3.2	<i>Seletividade</i>	71
4.1.3.3	<i>Efeito residual (carryover)</i>	72
4.1.3.4	<i>Estabilidade</i>	78
4.1.4	Amostras reais	80
5	CONCLUSÃO	83
6	REFERÊNCIAS	83
7	APÊNDICE A – POP DE IDENTIFICAÇÃO DE ECSTASY	93

1 INTRODUÇÃO

1.1 DROGAS SINTÉTICAS

As drogas sintéticas produzidas em laboratório têm como característica essencial o fato de serem projetadas para mimetizar ou até mesmo potencializar os efeitos causados pelas drogas de origem natural. Essas drogas são também conhecidas como *designer drugs*, ou seja, drogas de desenho e/ou análogas de substâncias já existentes (Alves et al., 2012; Ambrósio, 2012; Honorio et al., 2014).

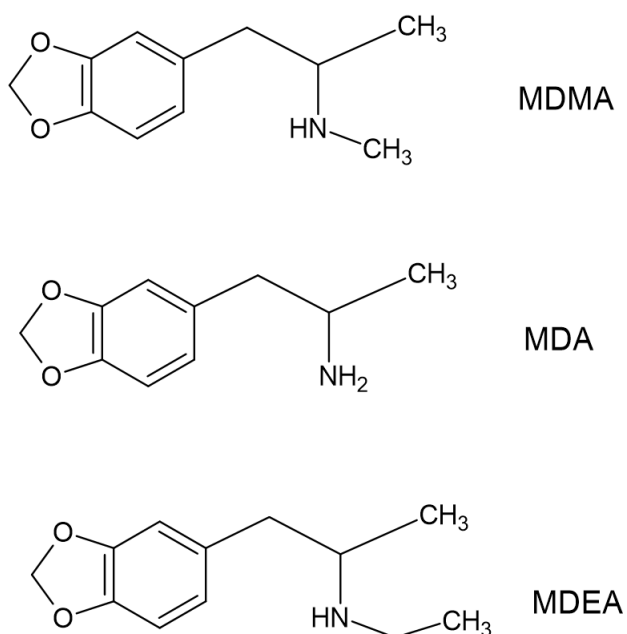
A dificuldade em se analisar as drogas sintéticas por métodos estabelecidos é principalmente devido à versatilidade das modificações realizadas nas moléculas e à dinamicidade com que elas surgem e saem do mercado ilícito. Diante desse cenário, o aperfeiçoamento de métodos analíticos adequados para identificação confiável e sensível destas substâncias é desafio constante para os órgãos forenses (Bulcão et al., 2012; Peters; Martinez-Ramirez, 2010).

Derivados das feniletilaminas, como a 2-metil-amino-3,4-metileno-dioxipropiofenona (metilona), N-metil-1-(1,3-benzodioxol-5-il)-2-butanamina (MBDB) e a 2,5-dimetoxi-4-iodo-feniletilamina (2C-I) surgiram no mercado como drogas sintéticas. Assim também como os derivados da triptamina como a α -metil-triptamina (AMT), 5-metoxi-N,N-di-isopropil-triptamina (5-MeO-DIPT), 5-metoxi- α -metil-triptamina (5-MeO-AMT) e 5-metoxi-N,N-metil-isopropil-triptamina (5-MeO-MIPT) (Bulcão et al., 2012; Luethi, Liechti, 2020; Pourmand et al., 2017; Taffe, Olive, 2018).

Mais recentemente surgiram as drogas derivadas da piperazina, sendo as mais utilizadas a 1-(3-clorofenil)piperazina (mCPP), a 1-benzilpiperazina (BZP), a 1-(4-metoxifenil)-piperazina (MeOPP) e a 1-(3-trifluorometilfenil)-piperazina (TFMPP). Há ainda os derivados canabinoides como canabicycloexanol, 1-pentil-3-(1-naftoil)indol (JWH-018), 1-naftoil(1-butilindolil)metanona (JWH-073) e 2,3-hidroxicicloexil-5-(2-metiloctanil)-fenol (CP 47,497) (Bulcão et al., 2012; Luethi, Liechti, 2020; Pourmand et al., 2017; Taffe, Olive, 2018).

A droga sintética mais popular e difundida é a 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA). O MDMA foi desenvolvido como derivado sintético da anfetamina e patentado pela empresa farmacêutica alemã Merck, em 1914, com a finalidade de ser um novo moderador do apetite. O termo *ecstasy* é popularmente difundido, para se referir a drogas sintéticas com efeitos e estrutura química similares, tais como o MDMA e análogos. Muitos dos comprimidos do tipo *ecstasy* contêm uma enorme variedade de componentes similares ao MDMA, dentre elas o 3,4-metilenodioxietilanfetamina (MDEA) e 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA) (Figura 1) (Cajanding,2019; Papaseit et al., 2020; Hall, Henry, 2006; Xavier et al., 2008; Moro et al.,2006; Lapachinske, 2004; UNODC, 2020a; UNODC, 2020b)

Figura 1 – Estrutura química do MDMA, MDA e do MDEA



Fonte: elaborado pela autora

No Brasil, crescentes quantidades de comprimidos do tipo *ecstasy* também têm sido apreendidas, tendo ocorrido a apreensão do primeiro laboratório de síntese de MDMA em São Paulo em 2000. Autoridades brasileiras apreenderam laboratórios

de *ecstasy* em 2008 e 2009, e também um laboratório de metanfetamina (MA) em 2009. Em 2010, o Brasil apreendeu 2.740 comprimidos de *ecstasy* e 5.910 unidades de MA. Em 2019, em Santa Catarina foram apreendidos 55 quilos de *ecstasy* ao longo de várias operações. Entre os anos de 2018 a 2020 ao menos oito laboratórios clandestinos foram desmantelados no território brasileiro com maior concentração de ocorrências nos estados do sul do país (Baptista et al. 2002; UNODC,2011; Santa Catarina, 2019; UNODC, 2020c).

Em 2021, cerca de 230 mil comprimidos de *ecstasy* foram apreendidos no município de Imaruí, no Sul Catarinense, sendo a maior apreensão da droga no país que se tinha registro. Também em 2021, a chamada operação “Rota do Espantalho” realizou prisões de envolvidos pertencentes a quadrilha criminoso que fabricava *ecstasy* nos municípios de Joinville, Balneário Camboriú e Florianópolis. Em fevereiro de 2023 a polícia apreendeu 22 mil comprimidos de *ecstasy* na cidade de Camboriú e em abril do mesmo ano, em Florianópolis, outra apreensão compreendendo mais de 13 mil comprimidos (Borges, 2021; Catucci, 2021; Pacheco, 2023; Souza, 2023).

1.2 PERFIL FÍSICO-QUÍMICO E A INTELIGÊNCIA POLICIAL

Além do princípio ativo majoritário, diferentes substâncias químicas podem ser detectadas nas amostras apreendidas, compreendendo adulterantes, excipientes, intermediários, solventes e até mesmo compostos inertes são adicionados para diluir a concentração da droga antes de ser comercializada ao usuário. Existem intermediários que são compostos que surgem em um método de síntese de várias etapas em que o precursor é convertido neste composto para em seguida, ser convertido no produto final. Podem existir diversos intermediários dependendo da rota de síntese, sendo alguns deles específicos para aquelas rotas, como já discutido acima. O próprio precursor também é frequentemente encontrado como uma impureza no produto final (Cooper, 2019; Ambrósio, 2012; Bovens, Schläpfer, 2011; Jones, 2010).

A inteligência policial da Polícia Federal vem trabalhando no projeto PeQui desenvolvido para obter informações sobre o perfil químico mais detalhado para identificação de características de origem e de correlação entre as amostras de cocaína. Nos Estados Unidos, a DEA (do inglês Drug Enforcement Administration) possui um programa de monitoramento do perfil químico de amostras de metanfetaminas, o Programa de Perfil de Metanfetamina (do inglês Methamphetamine Profiling Program (MPP)), que relata as mudanças na qualidade das drogas e nas tendências de produção dos laboratórios clandestinos (Botelho et al., 2014; DEA,2021)

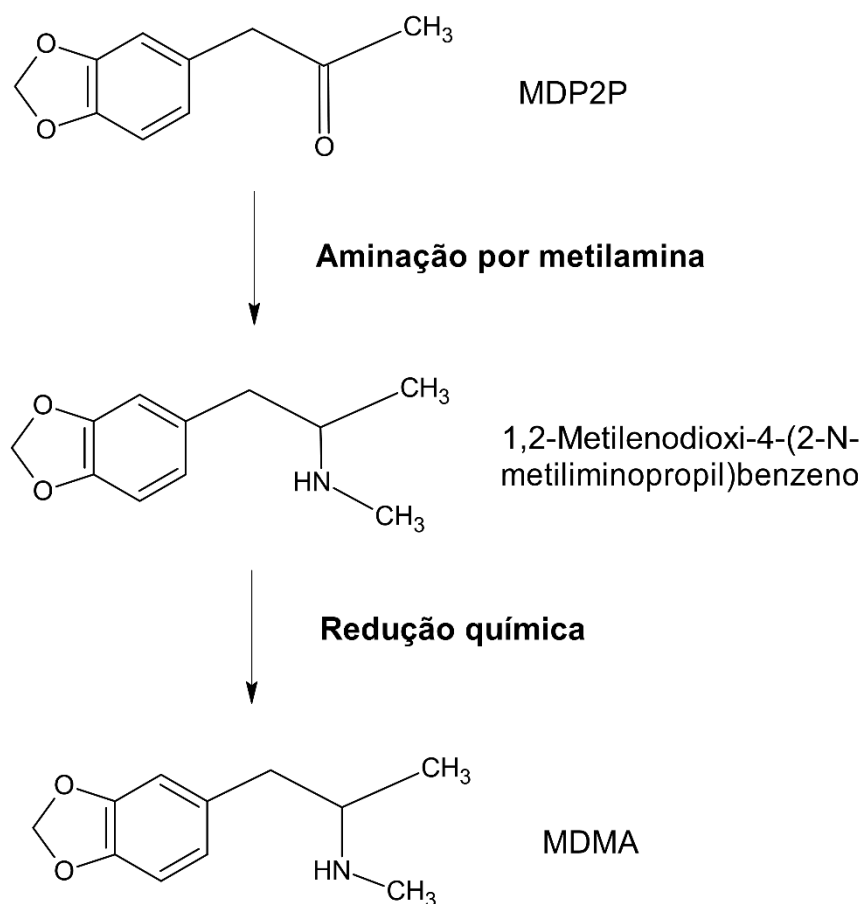
Na análise química é importante traçar os vestígios de precursores, intermediários e impurezas das reações de síntese, que podem fornecer informações importantes sobre o processo de fabricação dessas substâncias. Através da análise da presença ou ausência de impurezas nas amostras e as variações nos perfis de impurezas, a ciência forense pode ajudar a identificar os tipos de precursores químicos e rotas sintéticas utilizadas na fabricação de uma droga. O estudo do perfil químico de drogas é uma das áreas com grande potencial e de interesse pelas divisões de pesquisa científica ligada aos órgãos de Criminalística, auxiliando no monitoramento do mercado de drogas ilícitas e facilitando a coleta de informações para uso na inteligência policial (Vargas, 2012; UNODC, 2020a).

Ao determinar, por meio de análises químicas, a natureza das amostras e contaminantes das substâncias apreendidas, é possível estabelecer potenciais vínculos de origem, bem como quais produtos químicos foram utilizados para a síntese das drogas, subsidiando ações de repressão à cadeia de distribuição antes mesmo do seu destino. Inferências dessa natureza permitem rastrear a origem da droga por meio das características regionalizadas de manufatura, bem como eventuais comparações entre produtos acabados e locais de fabricação. Todas essas abordagens subsidiam de maneira contundente a investigação policial (Vargas, 2012; Choe et al., 2013; Reitzel et al., 2016).

1.3 ROTAS DE SÍNTESE

Na produção ilegal de MDMA, a síntese mais comum é por aminação redutiva de 3,4-metilenodioxifenilpropan-2-ona (MDP 2-P ou PMK) (Figura 2). Dentro deste método, diversos agentes redutores são utilizados, como borohidreto de sódio (NaBH_4), dissolução de redução de metal (Al/Hg) e redução de cianoborohidreto de sódio (NaBH_3CN). Além desses métodos, a reação de Leuckart e bromação de safrol também são utilizadas para sintetizar o MDMA (Heather et al., 2015; Cooper, 2019).

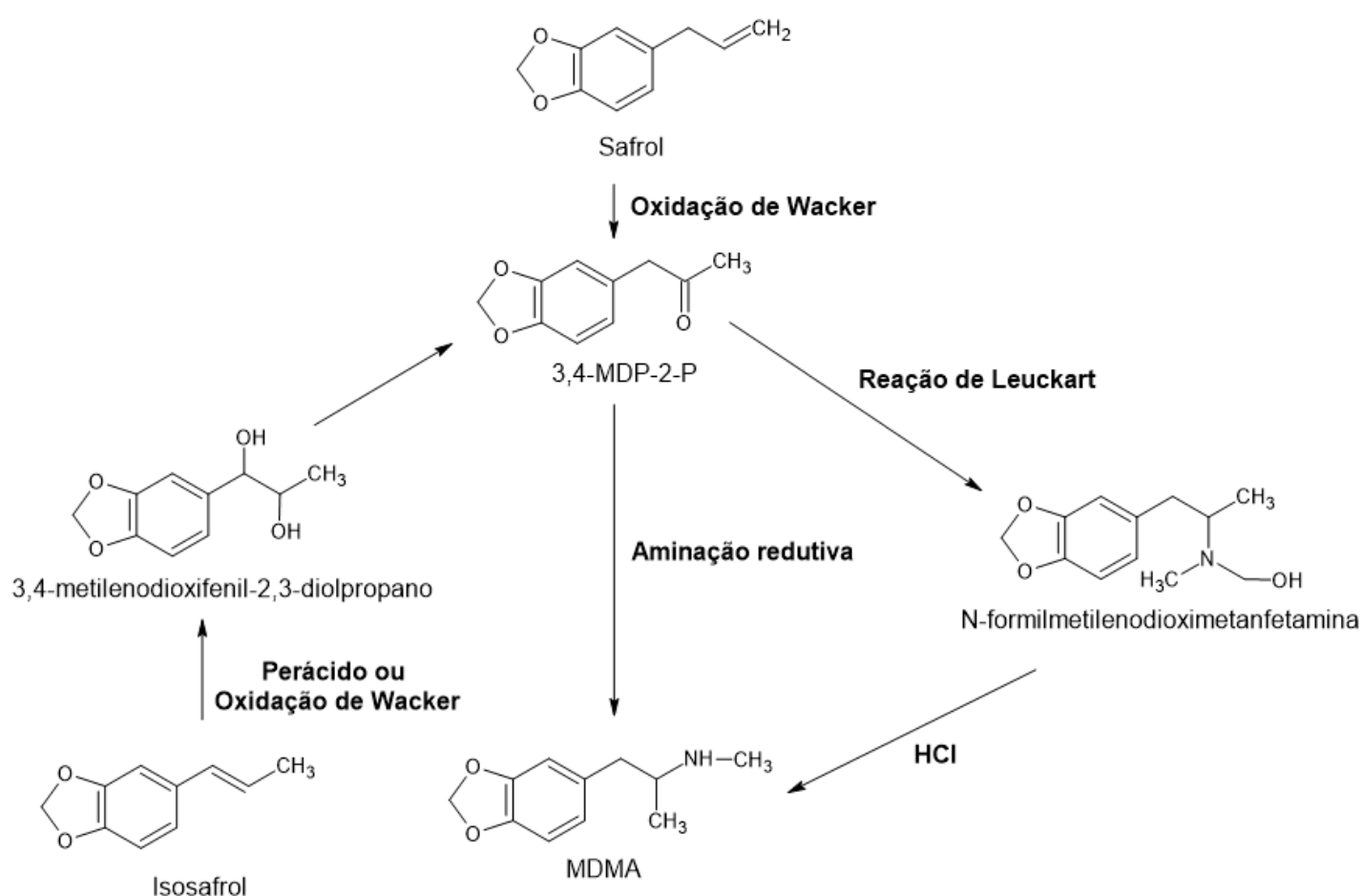
Figura 2 – Síntese de MDMA a partir de MDP₂P por aminação redutiva



Fonte: adaptado Gimeno et al., (2002)

A reação de Leuckart consiste em uma redução não metálica, produzindo um produto precipitado (Figura 3). Em relação a utilização do safrol, a síntese ocorre através do método de halosafrol, onde há o deslocamento do brometo com metilamina produzindo o MDMA. Nesta rota também há formação dos intermediários isosafrol e isosafrolglicol que podem ser identificados em análises de perfil químico (UNODC, 2018; Cremasco, Braga, 2012; Dunlap et al., 2018).

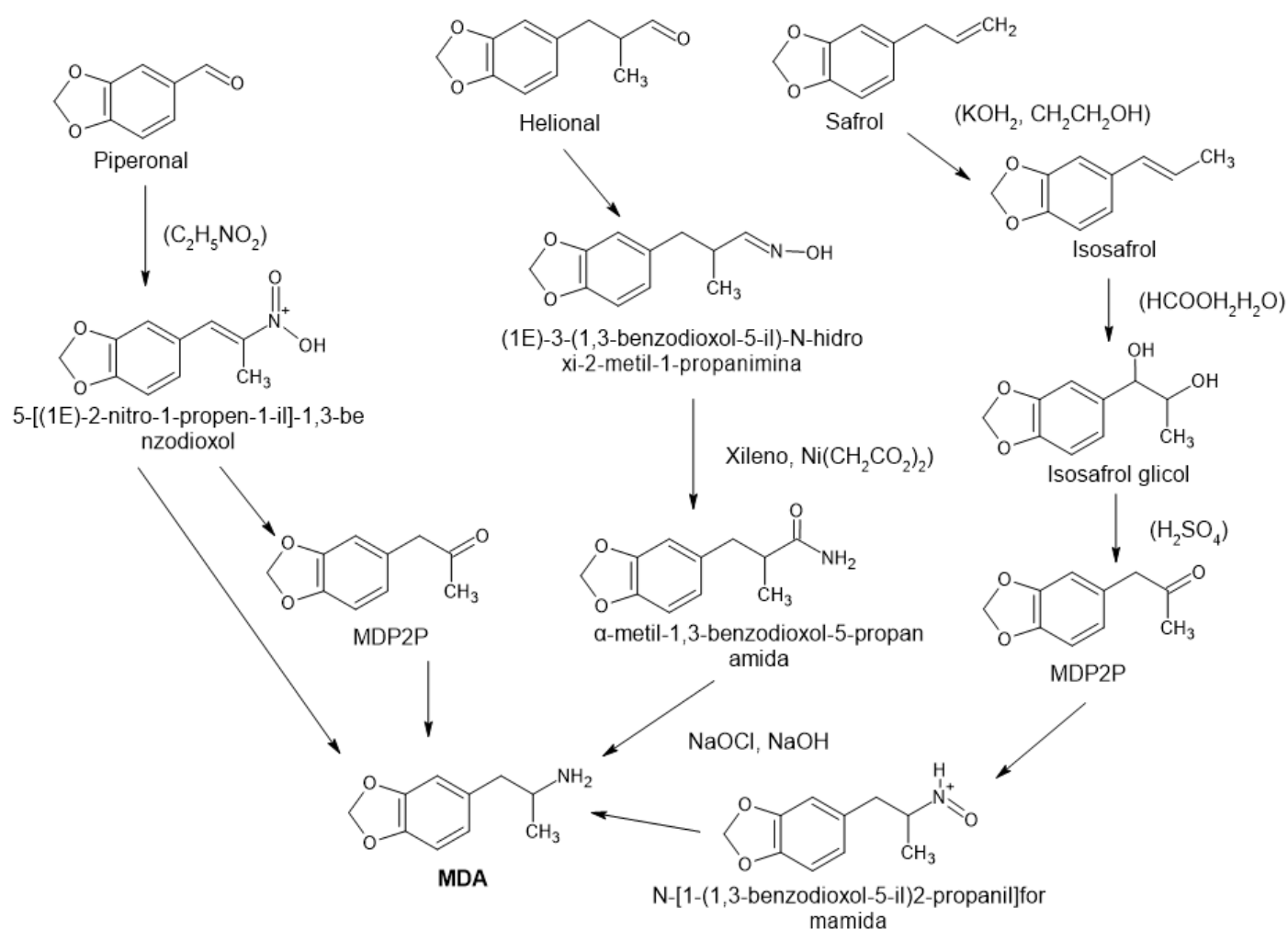
Figura 3– Síntese de MDMA a partir do Safrol, Isosafrol e Reação de Leuckart



Fonte: adaptado Cooper (2019)

O mesmo acontece para a síntese de MDA, que envolve principalmente o uso de safrol ou piperonal como o material de partida (Figura 4). Além desses, o helional também é utilizado, sendo um método que preocupa as agências de fiscalização, já que é amplamente utilizado para fins industriais, na produção de sabão, tem um manuseio simplificado durante a síntese e garante bom rendimento (Figura 5). Tendo sido incluído na lista D1 da Portaria SVS/MS nº 344/98 como substância precursora de entorpecentes e/ou psicotrópicos.

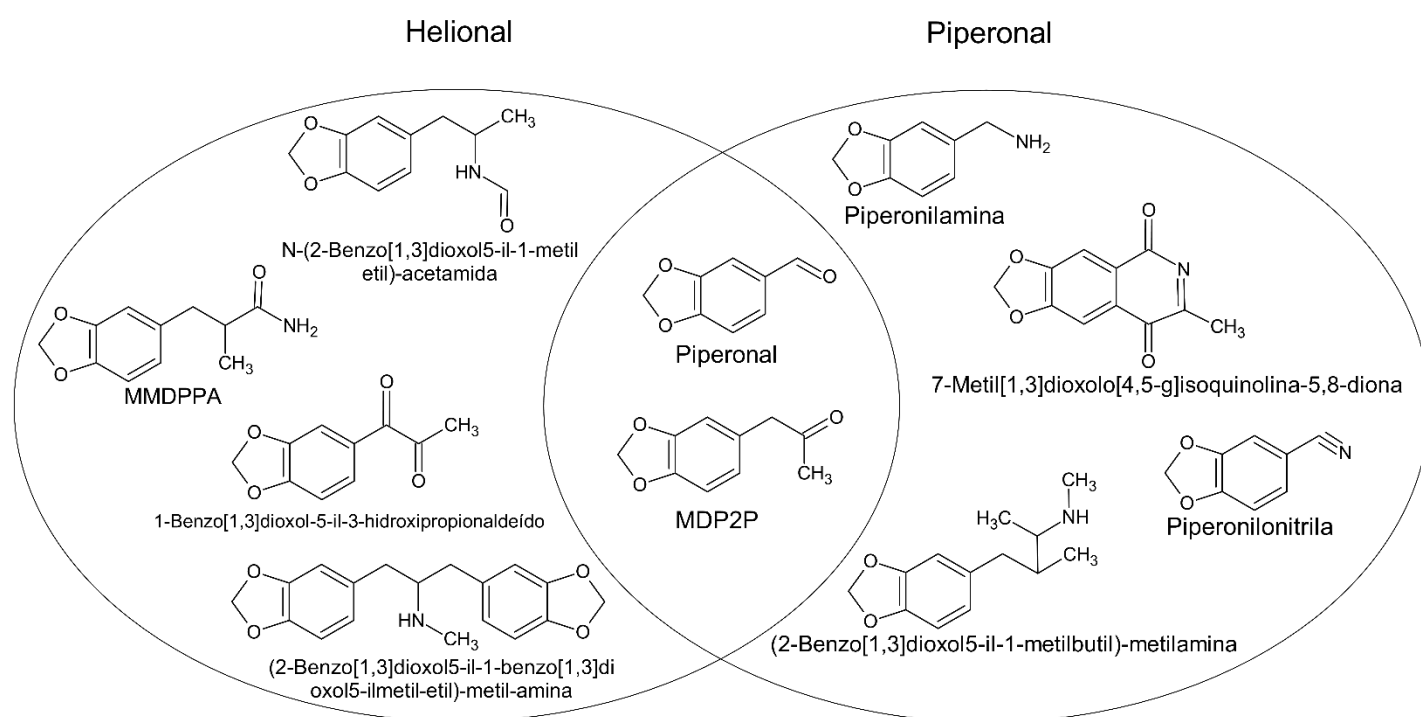
Figura 4 – Síntese do MDA a partir do Piperonal, Helional e Safrol



Fonte: adaptado Cooper (2019)

Novos precursores a partir do PMK estão sendo identificados: o 3,4-MDP-2-P metil glicidato (PMK glicidato) e o 3,4-MDP-2-P metil ácido glicídico (PMK ácido glicídico), ambas já incluídas na lista D1 da ANVISA, em 2019. Outro método conhecido, embora raro, de sintetizar MDA é a partir de ácido α -metil-3,4-metilenodioxicinâmico (UNODC, 2020c; Brasil, 1998; Cooper, 2019; Heather et al., 2015).

Figura 5 – Comparação das impurezas identificadas na síntese do MDA a partir do Helional e do Piperonal



Fonte: adaptado Cooper (2019)

Dos precursores, o 3,4-MDP-2-P é frequentemente relatado como presente em diversas rotas de sínteses do MDMA. O isosafrol também foi encontrado em algumas amostras, sendo esse composto utilizado como um material de partida para sintetizar diretamente MDMA ou para obter 3,4-MDP-2-P. Precursores como piperonal, safrol e isosafrol também foram detectados com frequência na síntese de

MDA. Nesse contexto, o isosafrol e o piperonal podem estar presentes concomitantemente e acaba sendo difícil de determinar qual foi usado como precursor, mesmo que uma impureza específica da rota como o 1- (3,4-metilenodioxifenil)-2-propanona oxima esteja presente (Palhol et al., 2002; Gimeno et al., 2002).

Em sínteses que utilizam o 3,4-MDP-2-P, o álcool correspondente, 3,4-metilenodioxifenil-2-propanol, é frequentemente presente como intermediário. O 3,4-metilenodioxifenil-2-propanol também foi citado como intermediário identificado nas etapas finais das diferentes vias de aminação redutiva. Essas vias também podem formar os intermediários 3,4-metilenodioxil-N-metilbenzilamina e N, N-dimetil-MDA. O N-formil-MDMA, é conhecido por ser específico da reação de Leuckart, sendo a única impureza que fornece informações precisas sobre o processo de fabricação utilizado (Khajeamiri et al., 2011; Palhol et al., 2002).

A presença de 3,4-metilenodioxil-N, N-dimetilbenzilamina (MDDMB) indica uma via de aminação redutora devido à aminação de piperonal residual usando metilamina. Os perfis de impureza dos compostos sintetizados dependem particularmente da temperatura e do tempo de reação, da pureza dos materiais de partida, e o processo de purificação usado para obtenção do produto. Já como adulterante, a cafeína foi citada, sendo adicionada por suas propriedades estimulantes do sistema nervoso central. Além dela, a cetamina, difenidramina, lidocaína e procaína também foram relatadas nas análises descritas (Palhol et al., 2002; Mcmanaman; Smith, 2014; Cheng et al., 2006).

Além dos adulterantes, estão sendo detectados também antioxidantes plásticos como o butil-hidroxitolueno (BHT), antioxidante 1076 (NOX) e antioxidante 168 (FOX) que apareciam em amostras de cocaína e agora estão sendo encontradas nas amostras de *ecstasy* também, que podem acrescentar informações sobre a origem desses comprimidos e colaborar com a inteligência policial na busca de laboratórios clandestinos (Arantes et al., 2022).

1.4 ANÁLISE DOS COMPRIMIDOS DO TIPO ECSTASY

Diversos estudos trazem uma variedade de técnicas que auxiliam para caracterização dos comprimidos de *ecstasy* apreendidos, porém nem todos os laboratórios forenses têm acesso a equipamentos que possibilitam tal caracterização devido ao alto custo de aquisição de insumos e ferramental técnico. Desta forma, o desenvolvimento de métodos analíticos que utilizam técnicas otimizadas e acessíveis aos laboratórios forenses – especialmente aqueles que têm grande demanda - facilitando a análise dos comprimidos e a determinação dos seus perfis químicos, pode ser de grande relevância e aplicabilidade na rotina forense (Amato et al., 2014; Giebink, Smith, 2011; Mitrevski et al., 2011; Moreira et al., 2016; Romão et al., 2011; Silva, 2018).

No que tange a análise desses compostos, apesar da disponibilidade de procedimentos de extração padronizados, a comparação de perfis químicos gerados por diferentes laboratórios continua com diversas variáveis como os diferentes solventes utilizados e as configurações nas temperaturas da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (do inglês Gas Chromatography Mass Spectrometry – GC-MS), afetando o tempo de retenção (TR) do composto (Palhol et al., 2002; Mcmanaman; Smith, 2014; Cheng et al., 2006).

As substâncias psicoativas e as impurezas orgânicas são usualmente extraídas por extração líquido-líquido (do inglês Liquid-liquid extraction - LLE) para então serem analisadas por GC-MS, resultando em um perfil químico (Tabela 1). A capacidade de um instrumento para processar misturas complexas é muito importante ao analisar amostras de drogas ilícitas, pois raramente as amostras são puras, e a utilização do GC-MS na identificação dessas substâncias já está bem documentada na literatura (Giebink; Smith, 2011; Cooper, 2019; Bonadio et al., 2009; Cheng et al., 2006; Togni et al., 2015).

A LLE é uma técnica clássica que tem sido frequentemente usada para realizar a extração de compostos de vários tipos de amostras, incluindo, amostras de

drogas brutas. Na literatura existem diversos artigos que demonstram a técnica como sendo um método em potencial para obtenção de um perfil de impureza orgânica a partir de amostras de MDMA e MDA (Jalali et al., 2016; Giebink; Smith, 2011; Gimeno et al., 2002; Milliet et al., 2009; Mcmanaman; Smith, 2014; Gallagher et al., 2012).

Tabela 1 – Comparativo dos artigos com metodologia para identificação do perfil dos comprimidos do tipo *ecstasy* com LLE e análise em GC-MS

(continua)

Artigo	Analito principal	Preparo da amostra	GC-MS	Coluna	Temperatura do forno	Temperatura injeção	Modo	Espectro de massa
Cheng, 2006	MDA, MDMA e MA	30 mg de pó + 1 mL tampão pH 11,5. Agitação 5 min. 1,5 mL de éter dietílico. Sobrenadante evaporado + 500µL de éter dietílico, agitado e transferidos para um vial.	Thermo Finnigan TRACE GC	DB5-MS	50°C por 1 min, 50-100°C com uma taxa de 5°C / min por 10 min, a 150°C com 5°C / min por 10 min e depois para 300°C com 15°C / min por 10 min.	230°C	Splitless	40–650 amu (modo EI)
Gimeno, 2002	MDMA	10mg de MDMA + 3mL de água destilada + 3mL éter dietílico + evaporação	Thermo Finnigan TRACE GC 2000	Supelco PTA5	50°C por 1 min, 5°C min — 1 a 150°C por 12 min e 15°C min — 1 a 300 ° C por 10 min.	280°C	Splitless	(modo EI e CI)

Tabela 1 – Comparativo dos artigos com metodologia para identificação de ecstasy com extração LLE e análise em GC-MS

(continua)

Artigo	Analito principal	Preparo da amostra	GC-MS	Coluna	Temperatura do forno	Temperatura injeção	Modo	Espectro de massa
Khajeami et al., 2011	MDMA	5mg em 2mL de água destilada. 150µL foi misturada com 100µL de padrão + 75µL de carbonato de sódio a 10% e 2mL de éter dietílico. Agitação por 10min + centrifuga a 3500 rpm. Camada de éter evaporada + 2 gotas de isopropanol. 500µL de metanol e 1µL dessa solução foi injetada.	Agilent 5973 MSD e 6890	Hp-5 ou HP-1	60°C mantido por 3 min até 250°C, 10°C/min mantido por 10min.	150°C	Splitless	29-250 amu (modo EI)
McManaman et al., 2014	MDMA	200mg em 4mL de tampão pH 7, vórtex por 10s, agitação por 10min, centrifugação por 8min. 400 µL de tolueno + vórtex por 2min, centrifugação por 10 min.	Agilent 6890 N e MS 5973		1) 60°C por 3 min, 10°C/min até 150°C por 2 min, 2°C/min a 170°C, 10°C/min até 260°C por 3 min. 2) 50°C por 1 min, 5°C min — 1 a 150°C por 12 min e 15°C min — 1 a 300°C por 10 min.	250°C	Splitless	50-500 m/z (modo EI)

Tabela 1 – Comparativo dos artigos com metodologia para identificação de ecstasy com extração LLE e análise em GC-MS

(conclusão)

Artigo	Analito principal	Preparo da amostra	GC-MS	Coluna	Temperatura do forno	Temperatura injeção	Modo	Espectro de massa
Palhol, 2002	MDMA	150 mg do pó + 1mL do tampão carbonato pH 10. Agitação + centrifuga por 5 min com 1mL de diclorometano. <i>Vial</i> com 100µL	Varian CP-3800	Coluna RTx-5MS	80°C, 8 °C/min a 210°C, 25°C/min a 300°C e mantida a 300°C por 5 min em tempo total de 25 min	270°C	Splitless	-
Togni et al., 2015	MDMA	10mg + 8mL de metanol + 1mL de padrão + ultrassom por 3 min + agitação e centrifuga por 5 min. Retirado sobrenadant e + 900µL de metanol e vórtex por 15s	Agilent 7890A MS 5975C	DB-5MSUI	100°C por 0.5 min, 40°C/min até 220°C, 25°C/min até 315°C por 1.7 min	280°C	SPLIT 1:20	42-450 amu (modo EI)
Van Deurse n, 2006	MDMA	Comprimido + 4mL tampão + vórtex + centrifuga + filtragem + padrão interno (tolueno) + sobrenadant e no <i>vial</i> .	Agilent 6890	DB-1MS J&W	90°C (retenção de 1 min) a 300°C (retenção de 10 min) a uma taxa de 8 °C/min (tempo total de execução 37,25 min)	250 °C	Split / splitless (purga tempo 1 min).	35 a 450 amu (modo EI)

Fonte: Elaborada pela autora

1.5 MDMA E MDA

O MDMA e MDA são mais comumente detectados em comprimidos do tipo *ecstasy*, mas podem ainda ser encontrados na forma de cristais, tabletes e cápsulas. A principal via de exposição se dá por via oral, sendo os efeitos psicoestimulantes observados de 20 a 60 minutos após a ingestão de doses moderadas, persistindo no organismo por 2 a 4 horas. Possui baixa ligação às proteínas plasmáticas, que acaba determinando que a quantidade total de droga disponível no plasma pode se difundir para o compartimento extravascular (Laranjeiras et al., 1996; Phonchai, 2009; Davies et al., 2018; Luethi, Liechti, 2020).

O pico de concentração plasmática é atingido duas horas após a administração oral, e os níveis residuais (0,005 mg/L) podem ser detectados 24 horas após a última dose. A eliminação da droga é parcialmente dependente da biotransformação hepática, com cerca de 65% da dose de MDMA e MDA sendo eliminada sem biotransformação, através da excreção renal. O MDMA é transformado em sua forma ativa, 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA), através da N-desmetilação pela enzima CYP2D6 (Xavier et al., 2008; Papaseit et al., 2020).

O mecanismo de ação do MDMA no sistema nervoso central ainda não está completamente elucidado. Ele afeta diversos neurotransmissores, com maior sensibilidade aos serotoninérgicos. Os efeitos do MDMA no humor são mediados pelos neurotransmissores dopamina e serotonina, enquanto os efeitos na termorregulação são influenciados pela noradrenalina. O MDMA tem menos impacto nos sistemas dopaminérgico e noradrenérgico em comparação com outras metanfetaminas, agindo principalmente na neurotransmissão serotoninérgica (Bulcão et al., 2012; Kalant, 2001; Davies et al., 2018; Xavier et al., 2008).

Os efeitos causados pelo MDMA incluem vasoconstrição periférica, broncodilatação, estimulação cardiorrespiratória e dilatação pupilar. Alterações na percepção do tempo e na percepção visual são observadas, acompanhadas de autoconfiança, empatia, diminuição da defesa e agressão seguida de aumento na interação social. As alucinações geralmente são leves e frequentemente de natureza tátil. Os efeitos de curto prazo incluem euforia, insônia, fadiga, humor deprimido e redução da ansiedade (Phonchai, 2009; Cajanding, 2019; Papaseit et al., 2020; Xavier et al., 2008).

Similar ao MDMA, o MDA é reconhecido por seus efeitos estimulantes, empatogênicos e alucinógenos. Ele compartilha a estrutura química básica do MDMA, diferindo principalmente na presença de amina primária em vez de um grupo metil (Baumann et al., 2009; Nichols, 1986).

Assim como o MDMA, o MDA atua principalmente sobre os sistemas serotoninérgico e dopaminérgico no cérebro. Esse aumento da liberação de serotonina está associado a efeitos emocionais, como empatia e sensação de proximidade com os outros, enquanto a ativação dos receptores de dopamina contribui para os efeitos estimulantes e prazerosos da substância. No entanto, existem algumas diferenças em relação aos perfis de ação entre essas duas substâncias (Baumann et al., 2009; Rothman et al., 2009).

O MDA é frequentemente consumido oralmente, onde sua absorção pelo trato gastrointestinal é relativamente lenta, resultando em um início dos efeitos que pode levar algumas horas. A substância é biotransformada principalmente no fígado pelas enzimas do citocromo P450, resultando em uma série de produtos de biotransformação, incluindo o ácido 3,4-dihidroximetilanfetamina (DHMA) e o ácido 3,4-dimetoxi-5-hidroxifenilacético (DOMA) (Rothman et al., 2009; Nichols, 1986).

O MDA também influencia outros sistemas neurotransmissores, como a noradrenalina, que pode contribuir para seus efeitos estimulantes. Além disso, a ação da substância nos receptores de serotonina 5-HT_{2A} e 5-HT_{2B} também está

relacionada às suas propriedades alucinógenas (Baumann et al., 2009; Rothman et al., 2009).

Atualmente, a Superintendência Regional da Polícia Científica em Joinville (PCI/SRJOI), na rotina do setor de Drogas Psicoativas, realiza a análise qualitativa por GC-MS (descrito na Tabela 7) dos comprimidos apreendidos do tipo *ecstasy* com o enfoque na identificação do princípio psicoativo principal, não sendo realizada análise do perfil químico de precursores e intermediários.

Diante do exposto, a relevância do trabalho consiste em aprimorar a análise das amostras apreendidas na PCI/SRJOI a fim de identificar além da substância ativa dos comprimidos, os precursores e intermediários para traçar um perfil químico mais completo, de maneira que seja viável a implementação da metodologia nas análises de rotina. A partir disso, esses dados poderão ser utilizados para levantamentos de inteligência, rastrear rotas de síntese de drogas sintéticas, avaliar a vinculação entre diferentes apreensões e investigação de potenciais laboratórios clandestinos na região atendida.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e validar metodologia para identificação dos comprimidos apreendidos como *ecstasy* para utilização do setor de Drogas Psicoativas da PCI/SRJOI.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver metodologia para identificação de substâncias em comprimidos de *ecstasy*, modificando parâmetros da etapa analítica de separação cromatográfica por cromatografia gasosa;
- Estabelecer as condições da espectrometria de massas para análise de drogas, precursores e impurezas em comprimidos de *ecstasy*;
- Otimizar o preparo de amostra para obter um melhor perfil cromatográfico;
- Aplicar a análise do perfil das substâncias apreendidas como *ecstasy* quanto ao perfil de impurezas;
- Elaborar um Procedimento Operacional Padrão (POP) para implementação na rotina do laboratório.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 REAGENTES E AMOSTRAS

Os reagentes utilizados foram: metanol, grau HPLC, procedente da Greentec® (Rio Grande do Sul, Brasil); acetato de etila da Merck® (Darmstadt, Alemanha); éter etílico da Merck® (Darmstadt, Alemanha); e n-hexano da Dinâmica® (São Paulo, Brasil).

A solução tampão foi preparada utilizando bicarbonato de sódio procedente da Verquímica® (São Paulo, Brasil); e carbonato de sódio da ITW Reagents® (Hesse, Alemanha). O pH foi ajustado para os diferentes valores de pH com solução de ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1M provenientes da Merck® (Darmstadt, Alemanha). Foi utilizada água destilada para a preparação de ambas as soluções citadas.

O agrupamento de amostras em *pools* de diferentes comprimidos do tipo *ecstasy* apreendidos e encaminhados para análise foi realizado a partir da seleção de comprimidos de diferentes tamanhos, desenhos e cores. Foram triturados com gral e pistilo e acondicionados em tubos Falcon devidamente identificados. Foram utilizados agrupamentos de amostras para tentar obter uma maior identificação de substâncias diferentes.

3.2 APRIMORAMENTO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO (GC) E DAS CONDIÇÕES DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS (MS)

O equipamento de cromatografia gasosa (GC) utilizado foi o do setor de Drogas Psicoativas da PCI/SRJ01: equipamento 7890A (Agilent®), acoplado a detector de espectrometria de massas (MS) 5975C, com amostrador automático CombiPal (CTC Analytics®). A coluna cromatográfica utilizada foi HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e como gás de arraste foi utilizado hélio com vazão de 1,0 mL/min,

sendo 1 µL da amostra injetado no aparelho. O sistema MS foi operado em modo scan. A varredura MS foi realizada na faixa de 50–450 u.

Inicialmente foram avaliadas as condições da cromatografia gasosa, como a rampa de temperatura, temperatura de injeção e vazão do *split/splitless*. Foi utilizado o modo *split*, variando na proporção 1:50, 1:40 e 1:25. As análises foram feitas em duplicatas, de forma univariada, utilizando 50 mg do *pool* de amostras.

Todos os testes foram realizados com o mesmo *pool* de amostras e a extração ocorreu com a adição de 950 µL de metanol. O sistema foi agitado em vórtex e centrifugado durante 4 minutos a 4000 rpm. Após isso, foi retirado 50 µL do sobrenadante e diluído em 900 µL de metanol já no *vial* (frasco de ensaio). Todas as condições cromatográficas avaliadas estão descritas na Tabela 2. Algumas dessas alterações foram feitas conforme descrito na literatura, como é o caso da condição 3 (descrita por Gimeno et al., 2002) e a 4 (segundo metodologia de Lapachinske et al., 2004).

Tabela 2 – Condições cromatográficas testadas para o aprimoramento das análises de *ecstasy* no GC-MS

(continua)

Condição	Rampa de temperatura	Vazão do SPLIT	Vazão do gás de arraste	Temperatura de injeção	Temperatura de linha de transferência	Temperatura de fonte de íons
1	100°C (0min) à 15°C/min à 300°C (2min). Tempo total da corrida de 15.33min.	SPLIT 1:50	1mL/min	280°C	300°C	230°C
2	100°C (0min) à 10°C/min à 300°C (2min). Tempo total da corrida de 15.33min.	SPLIT 1:50	1mL/min	280°C	300°C	230°C

Tabela 2 - Condições cromatográficas testadas para o aprimoramento das análises de *ecstasy* no GC-MS

(conclusão)

Condição	Rampa de temperatura	Vazão do SPLIT	Vazão do gás de arraste	Temperatura de injeção	Temperatura de linha de transferência	Temperatura de fonte de íons
3	50°C por 1 min, 5°C/min até 150°C por 12 min e 15°C/min até 300°C por 10 min	SPLIT 1:50	1mL/min	280°C	275°C	200°C
4	148°C por 1 min, 10°C/min até 200°C, 20°C/min até 270°C por 8 min	SPLIT 1:25	1mL/min	270°C	275°C	200°C
5	148°C por 2 min, 5°C/min até 200°C, 20°C/min até 270°C por 8 min.	SPLIT 1:40	1mL/min	270°C	275°C	200°C
6	148°C por 2 min, 3°C/min até 200°C, 20°C/min até 270°C por 8 min.	SPLIT 1:40	1mL/min	270°C	275°C	200°C
7	50°C por 2 min, seguido de 10°C/min até 300°C, mantém 300°C por 3 min	SPLITLESS	1mL/min	280°C	275°C	230°C
8	50°C por 2 min, seguido de 5°C/min até 300°C, mantém 300°C por 3min.	SPLITLESS	1mL/min	280°C	275°C	230°C
9	50°C por 2 min, seguido de 10°C/min até 290°C, mantém 290°C por 4 min.	SPLITLESS	1mL/min	280°C	300°C	230°C

Fonte: elaborado pela autora

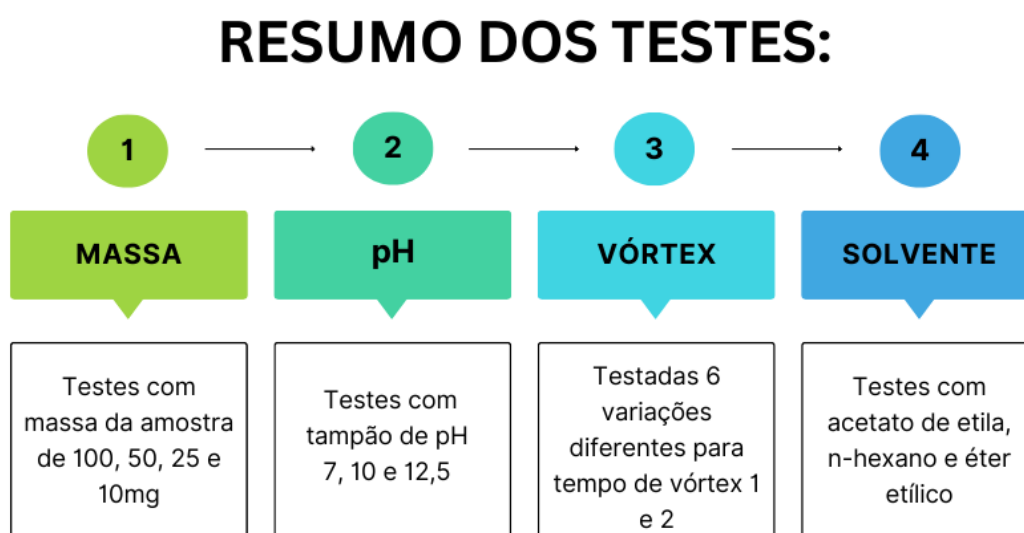
*Em negrito estão as alterações que foram realizadas de uma condição testada para outra.

3.3 PREPARO DA AMOSTRA

O preparo da amostra foi realizado pesando o *pool* de comprimidos triturados, em seguida foi adicionado 1mL da solução tampão carbonato 0,1M com diferentes pHs. O sistema foi agitado em vórtex (agitação 1) em diferentes tempos. A seguir, foi adicionado 1 mL de solvente e agitado em vórtex novamente (agitação 2). Por fim, a amostra foi centrifugada por 4 minutos a 4000 rpm e 600µl sobrenadante retirado com uma micropipeta, sendo transferido para um *vial* apropriado para a análise no GC-MS.

As variáveis testadas foram: utilização do ultrassom, solvente de extração, tempo de agitação, ajuste de pH e massa de amostra aliquoteada (Figura 6). Os testes foram realizados de forma univariada e em duplicata. A definição do melhor parâmetro considerou o cromatograma mais informativo com relação a quantidade de picos identificados com potencial de relação com as rotas de síntese de *ecstasy*, bem como a área do dos respectivos picos, quando relevantes.

Figura 6 – Resumo das variáveis testadas para o preparo da amostra



Fonte: elaborado pela autora

3.3.1 Ultrassom

A utilização do ultrassom foi avaliada durante 10 minutos (Lapachinske et al., 2004; Van Deursen et al., 2006; McManaman et al., 2014) a fim de verificar a influência deste no preparo da amostra. O resultado foi comparado com o preparo da amostra sem ultrassom. O ultrassom foi realizado após a agitação e antes da centrifugação.

3.3.2 Solvente

Três solventes foram avaliados considerando os artigos revisados utilizados na prática laboratorial (Tabela 1) e a disponibilidade no laboratório: acetato de etila (Kuwayama et al., 2008), éter etílico (Cheng et al., 2006; Gimeno et al., 2002; Jalali et al., 2016) e n-hexano (Giebink & Smith, 2011; Makino et al., 2003).

Os solventes foram comparados em relação ao número de picos no cromatograma que se encaixavam como potenciais compostos de interesse em rotas sintéticas de *ecstasy*, selecionados previamente. Foram realizados os testes em duplicatas para cada um dos solventes.

3.3.3 Agitação

Na metodologia proposta, foram avaliadas duas etapas de agitação: a primeira após a adição da solução tampão (agitação 1), e a segunda após a adição do solvente (agitação 2). Testaram-se diferentes variações de tempo, em duplicata, totalizando 6 análises. As variações testadas estão descritas na Tabela 3. Os resultados foram comparados em relação ao número de picos no cromatograma que se encaixavam como potenciais substâncias de interesse em rotas sintéticas de *ecstasy*. Foram realizados os testes em duplicatas para cada variação.

Tabela 3 – Tempos de agitação testados nas análises de *ecstasy* na preparação de amostra para posterior análise em GC-MS

VÓRTEX	VARIÇÃO					
	1	2	3	4	5	6
1	5 min	10 min	10 min	5 min	3 min	1 min
2	10 min	5 min	10 min	5 min	3 min	1 min

Fonte: elaborado pela autora

3.3.4 Solução tampão (pH)

As soluções tampão carbonato 0,1 M foram analisadas em 3 pHs diferentes: 7, 10 e 12,5. Os valores de pH testados foram escolhidos de acordo com trabalhos prévios da literatura (Tabela 1). A análise dos cromatogramas levou em consideração o número de picos definidos previamente (Tabela 4) e as respectivas áreas. Cada pH foi avaliado em duplicata.

3.3.5 Massa do comprimido

A influência da massa de *pool* aliqotada para a análise foi avaliada. Os comprimidos triturados foram pesados em balança analítica da marca Shimadzu, modelo 5AUW220D. Foram analisadas as massas de 10, 25, 50 e 100 mg do *pool* de comprimidos triturados em duplicata (do mesmo *pool*). A escolha das massas a serem testadas foram guiadas pelos trabalhos prévios da literatura (Tabela 1). Os cromatogramas foram avaliados em relação ao número de picos selecionados e área dos mesmos. A influência da saturação do equipamento também foi ponderada.

3.4 VALIDAÇÃO

O método analítico após aprimoramento foi validado com base nos guias nacionais da Anvisa (Brasil, 2003) e internacionais da SWGTOX e UNODC (SWGTOX, 2013; UNODC, 2018 e UNODC,2011) de validação analítica. Os testes foram readequados à realidade do laboratório devido a impossibilidade de obtenção de padrões analíticos das substâncias de interesse. Os parâmetros de validação que foram mensurados incluem: precisão, seletividade, efeito residual (*carryover*) e estabilidade.

Os tempos de retenção monitorados foram: 9.5 min (íons monitorados: 58, 91 e 65), 13.3 min (íons monitorados: 44, 135 e 77), 14.1 min (íons monitorados: 58, 77 e 135), 15.2 min (íons monitorados: 135, 77 e 51), 17.6 min (íons monitorados: 194, 109 e 67), 18.2 min (íons monitorados: 135, 77 e 207) e 24.2 min (íons monitorados: 163, 135 e 204). Esses picos foram selecionados tendo em base os íons característicos com as amostras de *ecstasy* previamente conhecidas (disponível na Tabela 4).

3.4.1 Precisão

A precisão foi avaliada com ensaios realizados no mesmo dia (intradia) e em dias distintos (interdia). Os ensaios foram realizados por meio de quintuplicatas ($n = 5$) alíquotadas do *pool* de comprimidos triturados. Foram calculados média, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) para cada tempo de retenção (TR).

A avaliação intradia levou em consideração a comparação de dois *pools* de diferentes comprimidos triturados e analisados em um mesmo dia. Já no interdia foram avaliados os mesmos dois *pools* anteriores, porém em dois dias diferentes (no dia seguinte). A precisão foi avaliada através do cálculo do CV das áreas dos picos de interesse, sendo admitidos valores iguais ou inferiores a 20%, conforme guia UNODC.

3.4.2 Seletividade

Esse parâmetro foi analisado através da comparação dos cromatogramas de amostras de acetato de etila, sem o princípio ativo adicionado. As amostras de acetato de etila foram simuladas utilizando-se os excipientes estearato de magnésio e celulose, preparados da mesma forma que a amostra teste, em triplicata. Foi ainda avaliado o cromatograma do solvente acetato de etila puro. Os cromatogramas foram plotados e comparados com a análise do *pool* de amostras para comparação dos picos de interesse. Foi avaliado se nesses cromatogramas aparecia algum dos picos selecionados como potenciais precursores ou intermediários de drogas sintéticas.

3.4.3 Efeito residual (*Carryover*)

O efeito residual foi avaliado injetando no cromatógrafo três alíquotas de acetato de etila, sendo: uma antes e duas após a análise de um *pool* de comprimidos triturados que continha os analitos de interesse. Os cromatogramas do acetato de etila foram comparados com o do *pool* de amostras para verificação de aparecimento de picos no TR dos analitos monitorados.

3.4.4 Estabilidade

A estabilidade foi avaliada através de testes de pré-processamento e pós-processamento. Na estabilidade pré-processamento, o *pool* de amostras foi preparado conforme protocolo estabelecido e foi realizada a análise do tempo zero. Em seguida, o mesmo *pool* foi armazenado a temperatura ambiente em tubo falcon devidamente fechado. As amostras foram reprocessadas, analisadas após 7, 15 e 30 dias e avaliadas quanto à área dos picos nos tempos de retenção de interesse.

Já para as análises da estabilidade pós-processamento, foi realizado também o preparo de um *pool* no tempo zero e analisado. Após isso, o mesmo *vial* (com a

amostra processada), foi inserido novamente no GC-MS para análise 12, 24 e 48 horas após o tempo zero.

3.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os picos dos cromatogramas foram analisados pelo software de acesso livre AMDIS Analysis, versão 2.73 de 2017. Os dados foram tabulados utilizando o programa Microsoft Excel®, versão 2007. Foram calculados a média das áreas dos picos, desvio padrão e CV para avaliar as variantes do preparo de amostra e de validação analítica. Os gráficos foram plotados pelo programa GraphPad Prism®, versão 6.0.

O programa AMDIS utilizado nesse estudo para analisar o cromatograma realiza uma possível associação com substâncias, associando sua base de dados e sugerindo possíveis combinações de TR e a identificação da substância. Todas as substâncias citadas neste estudo foram baseadas na sugestão do programa e servem para dar um direcionamento dos testes.

De forma a complementar as informações de identificação das substâncias pelo programa AMDIS, foram ainda avaliadas as bibliotecas do GC-MS, localizando as sugestões das substâncias de interesse do cromatograma. Essas bibliotecas sugerem a identificação do composto de acordo com a fragmentação e massa molecular, como, por exemplo, a biblioteca da SWGDRUG (Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs) e Cayman Spectral Library, que compilaram uma biblioteca espectral de massa de uma variedade de fontes, contendo drogas e compostos relacionados a drogas (Feeney et al., 2022; Coopman et al., 2022).

3.6 APLICABILIDADE DA TÉCNICA

Foram realizadas análises de 5 comprimidos apreendidos e encaminhados para a PCI/SRJOI. Todos os comprimidos selecionados apresentavam o desenho

“CNN”. O desenho foi selecionado como um dos mais recorrentes, considerando a quantidade de apreensões distintas e o volume de comprimidos apreendidos durante os anos de 2022 e 2023 e encaminhados para análise na PCI/SRJOI. As amostras selecionadas foram processadas nos parâmetros da metodologia validada.

Os 5 comprimidos analisados eram oriundos de apreensões provenientes de diferentes cidades, a fim de correlacionar o perfil químico deles com a região da apreensão. As apreensões ocorreram em: Joinville, Balneário Camboriú, Papanduva, Campo Alegre e Canoinhas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1.1 Aprimoramento do método cromatográfico (GC) e das condições da espectrometria de massas (MS)

Na primeira condição avaliada somente uma substância eluiu no TR de 5.4 min, sendo sugestivo de MDMA. Neste primeiro teste a rampa foi configurada a 100°C (0 min) à 15°C/min à 300°C (2 min), com tempo total da corrida de 15.3 min. A temperatura de injeção foi de 280°C, a de linha de transferência 300°C e temperatura de fonte de íons foi 230°C, SPLIT 1:50. Na condição 2, a troca da programação da temperatura foi feita para 10°C/min ao invés de 15°C/min, e o mesmo perfil se repetiu: poucos picos cromatográficos. O pico presente foi em 6.7 min sugestivo de MDMA. Analisando ambas configurações, o resultado apresentou a detecção de 1 pico no cromatograma (Figura 7a), indicando a necessidade de ajustes quanto a análise, já que os potenciais precursores não estavam presentes no cromatograma, por isso optou-se por alterar a temperatura da rampa para ver se diferentes substâncias eluiriam.

Figura 7 – Cromatogramas das análises de aprimoramento cromatográfico em GC-MS das amostras de *ecstasy*. **7a**- Análise seguindo a configuração 1 (TR 5.4 min – MDMA); **7b**- Análise seguindo a configuração 3 (TR 20 min – MDMA); **7c**- Análise seguindo a configuração 7 (TR 4.8 min – MDA. TR 5.4 min – MDMA; TR 11.9 min – Cafeína); **7d** –Análise seguindo a configuração 9 (TR 9.5 min – MA; TR 13.8 min – MDA; TR 14.5 min- MDMA; TR 17.8 min – Cafeína; TR 18.4 min – N-acetil-MDA).

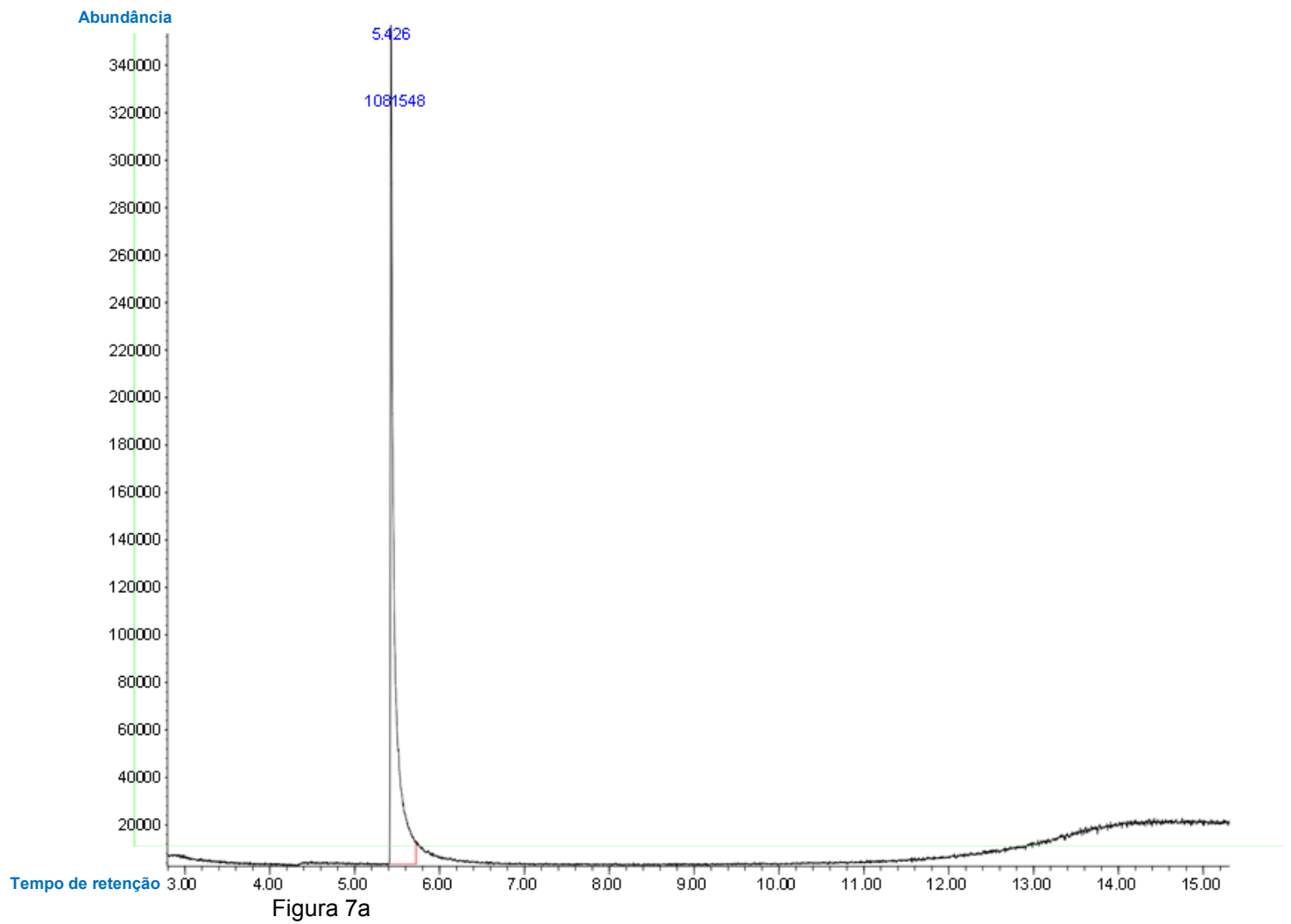


Figura 7a

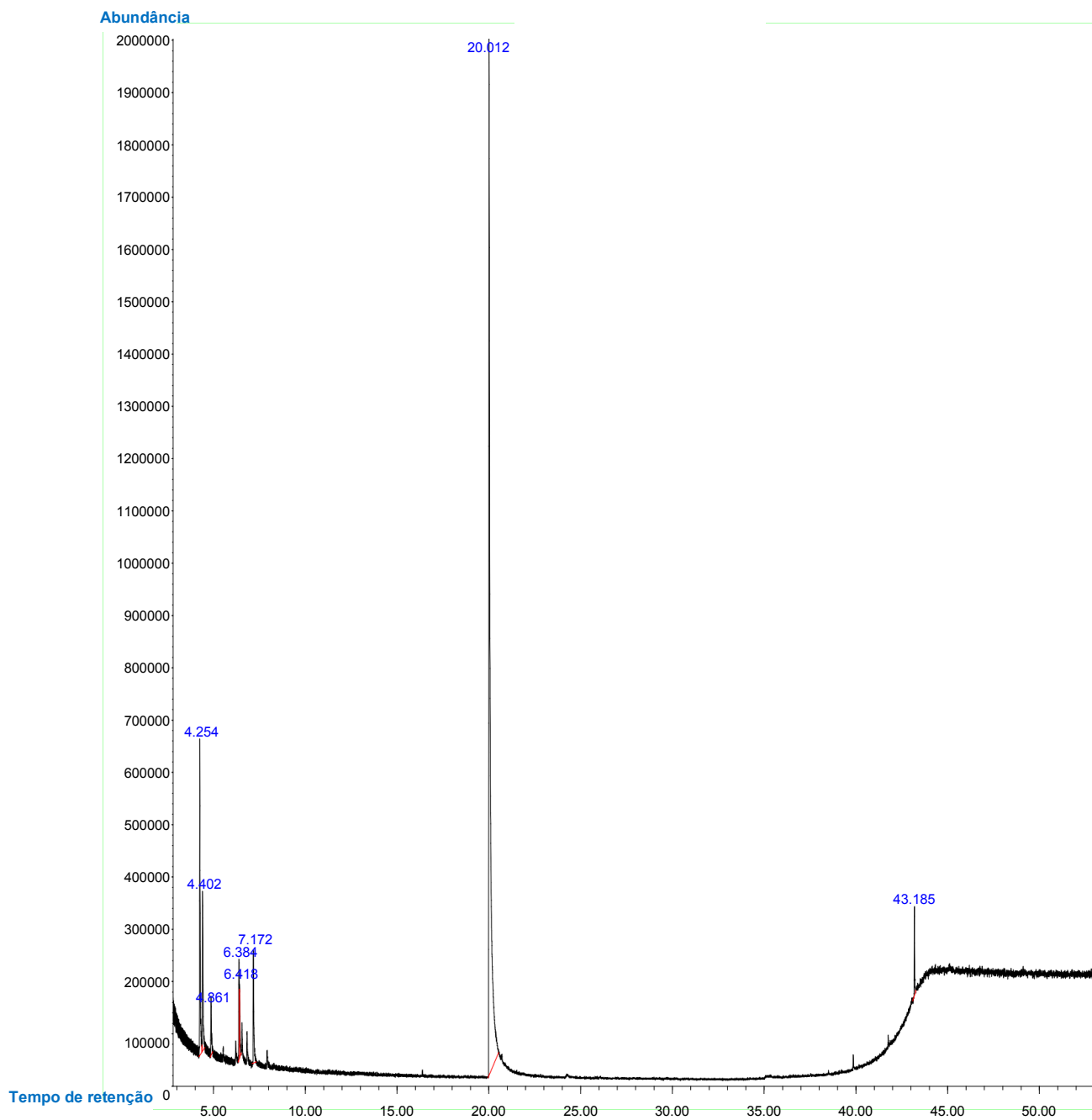


Figura 7b

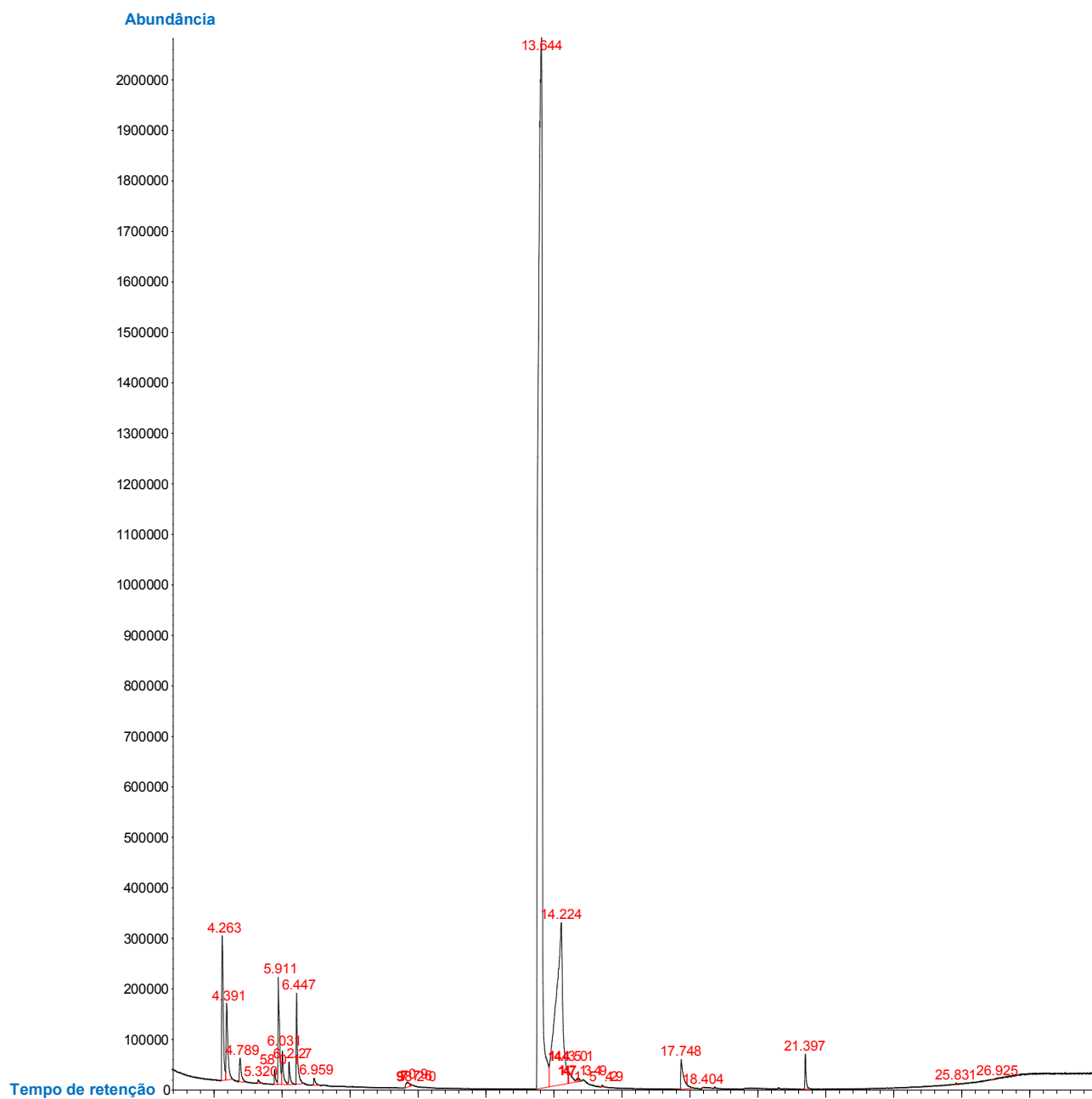


Figura 7c

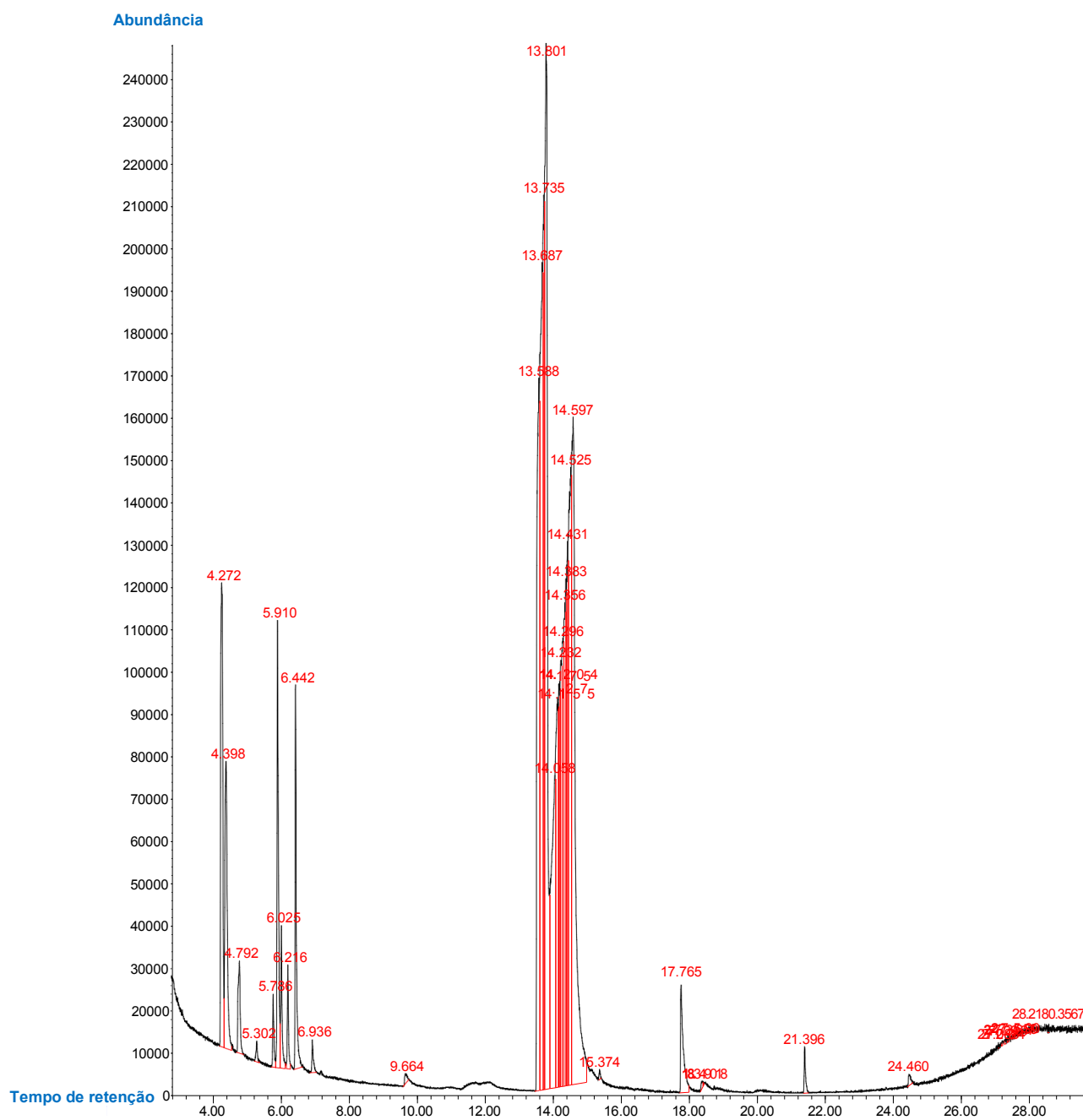


Figura 7d

Fonte: elaborado pela autora

Na condição 3, a rampa da corrida foi alterada para 50°C por 1 min, 5°C/min até 150°C por 12 min e 15°C/min até 300°C por 10 min. A temperatura de linha de transferência foi de 275°C, a de fonte de íons foi 200°C e a de injeção foi mantida

280°C. Nessa condição foi possível observar o aparecimento de mais picos em relação às configurações anteriores, pois foi diminuída a temperatura inicial da rampa, tendo a eluição de substâncias com o ponto de ebulição menor no começo da corrida (Figura 7b). Porém, nenhum deles corresponde a um pico de potencial interesse como sendo de um precursor ou intermediário de uma reação de síntese. No TR 20.0 min temos o MDMA como sugestivo, e no TR 43.2 min não temos identificação sugestiva na biblioteca (Bhardwaj, 2016; Collins et al., 2006). Essa condição foi descrita por Gimeno et al. (2002), que conseguiram identificar algumas impurezas como PMMA e 3,4-metilenodioxo-N,N-dimetilbenzilamina, mas o preparo de amostra foi divergente do presente estudo.

Na condição 4, o SPLIT foi modificado 1:25 e a rampa foi inicialmente com uma temperatura maior de 148°C, 10°C/min até 200°C, finalizando com 270°C por 8 min. Essa condição seguiu a metodologia do artigo escrito por Lapachinske et al. (2004). Neste teste, foi observado a eluição de três picos: TR de 3.8 min (MDA), 4.2 min (MDMA) e 7.1 (Cafeína). Com o aumento da temperatura inicial foi observado uma diminuição de picos sem interesse no início da corrida e menor resolução, porém com a presença da cafeína aparecendo em 7.1 min devido ao aumento da temperatura durante a rampa.

A condição 5 teve o SPLIT alterado para 1:40 e demais configurações semelhantes ao teste anterior. Porém, não foi observado diferença no perfil do cromatograma, contendo ainda três picos das mesmas substâncias sugeridas, sendo: 4.5min (MDA), 5.2 min (MDMA) e 10.2 (Cafeína).

Na configuração 6 foram mantidas as mesmas configurações anteriores, porém alterando a rampa para 148°C por 2 min e 3°C/min até 200°C. Foram observados os picos nos tempos de retenção de 4.8 min (MDA), 5.4 min (MDMA) e 11.9 min (Cafeína).

Houve uma mudança na quantidade de picos a partir da configuração 7 (Figura 7c). Foi realizada uma redução na temperatura inicial para 50°C por 2 min, seguido de 10°C/min até 300°C, mantendo 300°C por 3 min. Foram identificados os

picos 13.6 min (MDA), 17.7 min (Cafeína) e 18.4 min (N-acetil-MDA). Como consequência da alteração do programa de temperatura da rampa foi alterada promovendo um aumento da temperatura da rampa mais lenta e, portanto, uma melhoria na resolução dos picos (Bhardwaj, 2016; Mcnair et al., 2022).

Já na configuração 8, a rampa foi 50°C por 2 min, seguido de 5°C/min até 300°C, mantém 300°C por 3 min, no modo SPLITLESS, com temperatura de injeção de 280°C. O perfil cromatográfico da configuração 8 foi idêntico ao da condição 7. Tentou-se ainda, nas condições 7 e 8, diminuir a temperatura inicial para 50°C, melhorando o perfil das substâncias que eluem no começo da corrida (ponto de ebulição menor). Porém, nenhum desses picos possuíam identificação sugestiva na biblioteca de correspondência. Portanto, a diminuição da programação de temperatura a 5°C/min não modificou o perfil do cromatograma (McNair et al., 2022).

Apenas na configuração 9, que teve a programação de temperatura alterada para 10°C/min até 290°C, mantendo 290°C por 4 min, foi observado o perfil cromatográfico com maior diversidade de substâncias de interesse forense. Nesta avaliação foi obtido o melhor perfil de cromatograma abrangendo mais picos e potenciais substâncias de interesse para o estudo. Para essa última configuração testada, foram observados picos nos seguintes tempos de retenção: 9.5 min (MA), 13.8 min (MDA), 14.5 min (MDMA), 17.8 min (Cafeína) e 18.4 min (N-acetil-MDA), conforme Figura 7d.

Os resultados demonstraram que as mudanças na rampa de temperatura mantendo-se a temperatura inicial de 50°C e a programação de 10°C/min até 290°C facilitou a eluição do pico em 9.5 min. Isso pode ser explicado pelo fato de que o ajuste possibilitou uma mudança de temperatura mais amena, melhorando a resolução e a simetria dos picos. O ajuste também foi o suficiente para que as substâncias de potencial interesse relacionadas com a rota de síntese do *ecstasy* não sofressem decomposição devido às altas temperaturas (Bhardwaj, 2016; Collins et al., 2006).

A detecção de mais substâncias nessa última configuração, sinaliza que os testes melhoraram o perfil de separação das substâncias e com isso aumentando a

chance de traçar um perfil favorável para identificação de precursores e intermediários.

Por fim, a condição cromatográfica que antes era de 100°C (0 min), seguida de uma rampa de 15°C/min até 300°C (mantido por 2 min), com temperatura de injeção 280°C, temperatura de linha de transferência a 300°C e temperatura de fonte de íons 230°C, com duração total da corrida de 15.3 min, passa a ser temperatura inicial de 50°C (mantido por 2 min), seguido de uma rampa de 10°C/min até 290°C (mantido por 4 min), temperatura de injeção de 280°C e tempo total da corrida de 38 min.

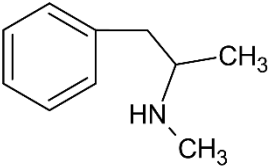
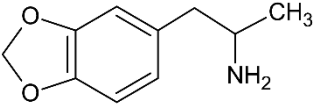
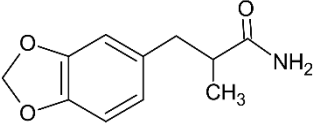
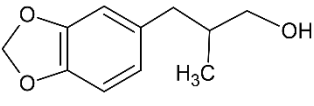
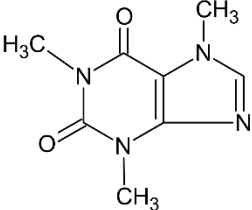
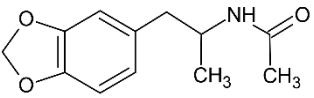
Ao longo dos ajustes dos parâmetros no GC-MS houve uma maior detecção de substâncias que eluíram no começo da corrida, com picos espaçados entre si e simétricos. Portanto, foi possível obter um perfil cromatográfico que indique de forma mais informativa as substâncias presentes nas amostras. O presente estudo, entretanto, apresenta como limitação a falta de padrões analíticos para uma identificação inequívoca das substâncias de interesse (Collins et al., 2006; Mcnair et al., 2022).

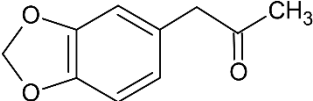
A comparação das massas/carga com as bibliotecas só é possível pois o detector de espectrometria de massas promove a ionização através do impacto de elétrons. Nesse modo de ionização o padrão de quebra das moléculas será sempre igual para determinada substância, ou seja, sempre irá fragmentar da mesma maneira ao colidirem com os elétrons, uma vez que os elétrons são bombardeados à uma energia constante de 70 eV, gerando o íon molecular e os fragmentos. Entretanto, mesmo tendo a massa molecular e os fragmentos de um composto desconhecido, o software fornece de 5 a 10 opções de possíveis fórmulas moleculares para esse composto e indicam a porcentagem que o pico se assemelha a substância identificada (Bhardwaj, 2016; Collins et al., 2006).

Comparando os resultados das substâncias indicadas como sugestiva pelo programa AMDIS e os dados da literatura, temos: segundo descrito em Palhol et al. (2002), os íons das substâncias Metanfetamina, MDA, cafeína e N-acetil-3,4-

metilenodioxianfetamina (N-acetil-MDA) batem com o correspondente sugerido pelo programa, ou seja, os 3 íons que apareceram no cromatograma também foram descritos no artigo (Tabela 4).

Tabela 4 - Comparação dos íons sugestivos do programa AMDIS e dos íons descritos na literatura para as substâncias monitoradas nas amostras de ecstasy.

TR	Íons monitorados	Sugestivo de:	Estrutura molecular	Íons segundo literatura
9.5	58 91 65	Metanfetamina		58, 91, 150, 56, 65, 100, 21, 17, 11 e 10 ¹
13.3	44 135 77	MDA		136, 44, 135, 137, 77, 100, 52, 17, 10 e 06 ¹
14.1	58 77 135	MMDPPA		135, 207, 77, 136, 105 e 162 ¹
15.2	135 77 51	(2R)-3-(1,3-Benzodioxole-5-il)-2-metilpropan-1-ol		135, 165, 164, 51, 77, 100, 60, 25 e 20 ¹
17.6	194 109 67	Cafeína		194, 193, 55, 109, 67, 100, 32, 28, 16 e 13 ¹
18.2	135 77 207	N-acetil-3,4-metilenodioxianfetamina		58, 162, 100, 43, 135, 100, 49, 21, 10 e 8 ¹

24.2	163	135	204	3,4- metilenodioxifenil-2- propanona		135, 178, 77, 136, 51 e 105¹
-------------	-----	-----	-----	--	--	--

¹Os íons de cada substância foram retirados dos artigos de Cooper et al. (2019) e Palhol et al. (2002).
Fonte: elaborado pela autora

No TR de 9.5 min detectou-se MA como composto, uma substância análoga ao MDMA. Em 13.3 min temos o MDA. Já em 14.1 min temos MDA-2-amido-análogo que corresponde ao MMDPPA, que pode ser indicativo de síntese de MDA a partir de helional (Cormick et al., 2022).

Em 15.2 min, a substância (2R)-3-(1,3-Benzodioxole-5-il)-2-metilpropan-1-ol apareceu como sugestiva. Essa substância é semelhante com a descrita no artigo de Cooper et al. (2019): o 3-Benzo[1,3]dioxol-5-il-2-metil-propionaldeído oxima. Essa substância é formada a partir da mistura do helional com etanol e adição de cloridrato de hidroxilamina e carbonato de sódio para obtenção de MDA.

Já em 17.6 min foi observada identificação sugestiva de cafeína, substância que é comumente utilizada na mistura dos excipientes, como adulterante, para a fabricação dos comprimidos devido sua ação estimulante (Cheng et al., 2006).

Em 18.2 min foi detectado N-acetil-3,4-metilenodioxianfetamina (N-acetil-MDA), um subproduto do MDMA, possivelmente gerado através da reação da MDP2P com as impurezas acetamida e N-metilacetamida. Ainda não está bem definido na literatura a origem certa dessa substância. Acredita-se que através da reação de Leuckart, o N-acetil-MDA é formado pela reação do MDP2P com acetamida (Moraes, 2022).

O composto 3,4-metilenodioxifenil-2-propanona (MDP2P ou PMK) foi sugestivo do pico no TR de 24.2 min, sendo um precursor ou intermediário da síntese de MDMA. O MDP2P pode atuar como intermediário na síntese do MDMA, a partir de precursores como safrol, isosafrol ou piperonal (Plummer et al., 2016).

Para as substâncias MMDPPA (TR 14.1min) e 3,4-MDP-2-P (TR 24.2 min), segundo Cooper (2019), há os mesmos íons que os descritos nos cromatogramas das

análises. No entanto, para essas duas substâncias, não são todos os íons que coincidem. Porém, ao analisar outros íons que aparecem no cromatograma é possível observar que para o MMDPPA há também no cromatograma o íon 136. O mesmo acontece para 3,4-MDP-2-P há também no cromatograma os íons 105 e 77.

4.1.2 Preparo da amostra

4.1.2.1 *Ultrassom*

A utilização do ultrassom no preparo de amostra pode favorecer o processo de extração dos compostos devido à possibilidade das ondas ultrassônicas facilitarem a interação das fases (analitos de interesse presentes na amostra e solvente de extração) (Falaki, 2019). Dessa maneira, o uso de ultrassom foi testado no início dos ensaios para ver se haveria mudança no perfil cromatográfico.

No entanto, no cromatograma (Figura 8) foi possível observar que a inserção do ultrassom durante 8 minutos não impactou no perfil cromatográfico se comparado com o mesmo preparo sem utilização do ultrassom. Por isso, optou-se por continuar as análises sem o ultrassom, a fim de agilizar a rotina laboratorial.

No artigo de Meng et al. (2015), o banho ultrassônico foi testado na extração de drogas de abuso em matriz biológica (urina e sangue). Os autores testaram os tempos de 1 a 10 minutos, sendo observado que o processo aumentou a dispersão do solvente na solução aquosa, tendo um aumento significativo na extração. A maior eficiência de extração foi alcançada em 3 minutos de procedimento, o que difere do presente estudo em que o ultrassom não modificou os resultados obtidos sem essa etapa de preparo de amostra. Porém, no estudo citado foram utilizadas matrizes biológicas para identificação de drogas de abuso e nesse tipo de material temos interferências de diversas outras substâncias inerentes às matrizes que precisam ser avaliadas para minimizar as interferências da análise.

Estudos realizados por Van Deursen et al. (2006) e Lapachinske et al. (2004) utilizaram banho de ultrassom por 10 minutos durante a preparação de comprimidos de *ecstasy*, mas em ambos trabalhos não foram avaliados outros tempos ou mesmo comparado o resultado sem a utilização de ultrassom. Por outro lado, vários estudos como Jalali et al. (2016), Cheng et al (2006) e Świst et al. (2005b) não utilizaram ultrassom durante a preparação da amostra e obtiveram resultados satisfatórios de identificação. Jalali et al. (2016), por exemplo, identificou MDMA, anfetamina e ketamina nos comprimidos, enquanto Cheng et al (2006) identificou cafeína, piperonal, MDB, piridina e N-formil-MDMA.

Figura 8 – Comparação entre os cromatogramas das metodologias com e sem ultrassom em GC-MS durante a etapa de preparação de amostras de comprimidos de *ecstasy*. 8a - Cromatograma sem ultrassom durante a etapa de preparação de amostra (TR 5.4 min – MDMA). 8b- Cromatograma da metodologia com ultrassom durante a etapa de preparação de amostras (condição cromatográfica utilizando a variação 1, onde TR 5.4 min - MDMA)

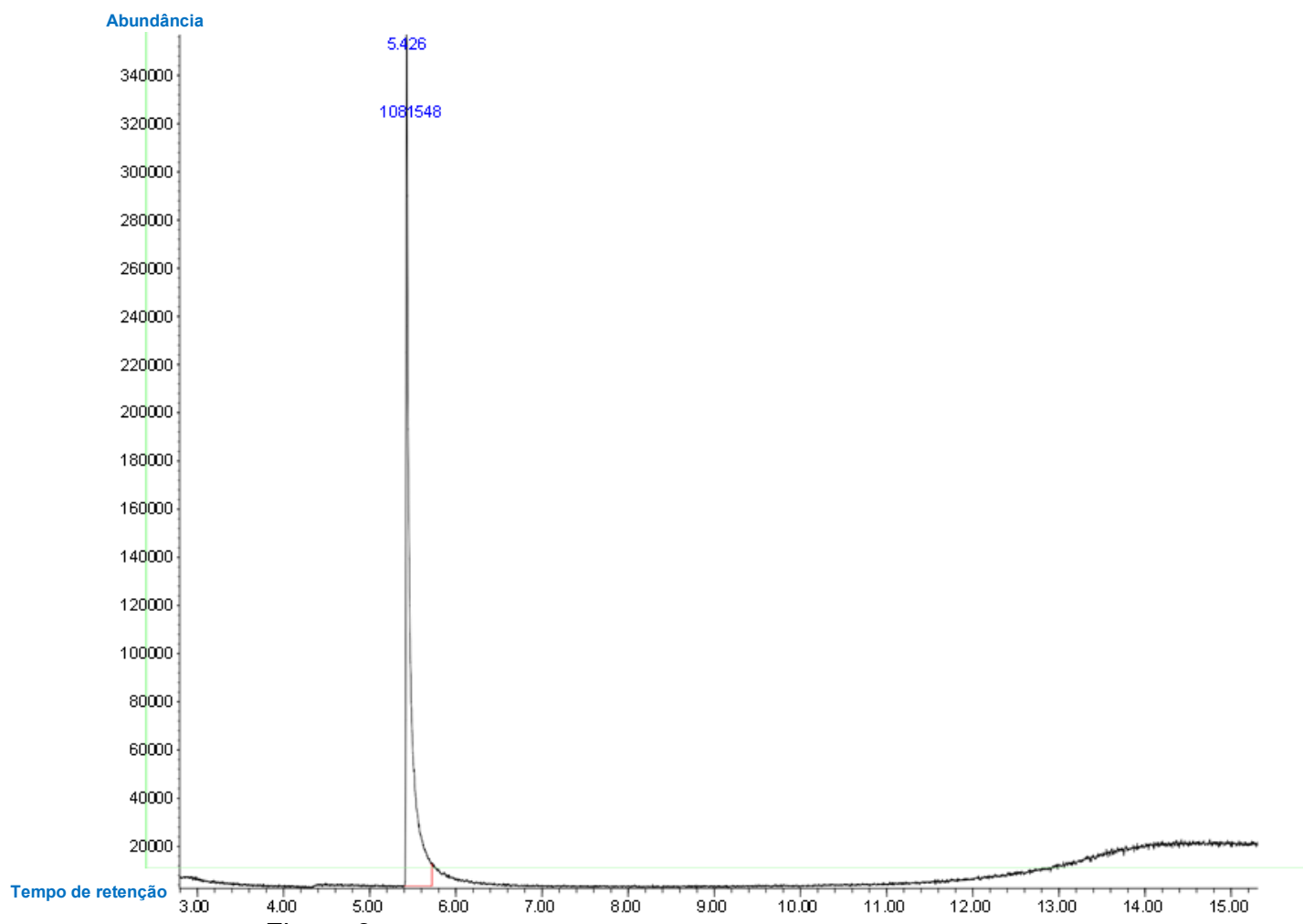


Figura 8a

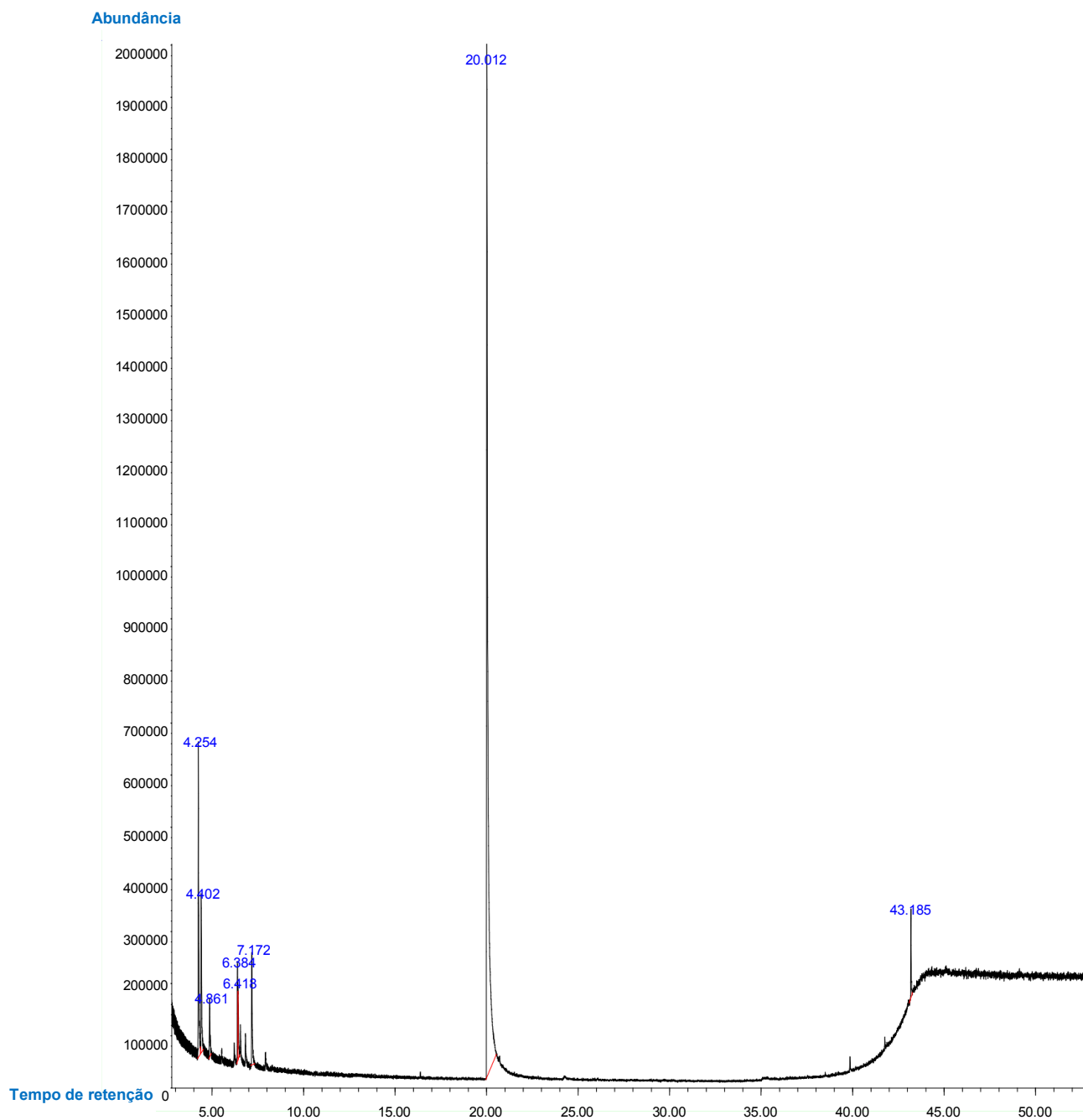


Figura 8b

Fonte: elaborado pela autora

4.1.2.2 Solvente

Os três solventes avaliados, acetato de etila, éter etílico e n-hexano, foram adicionados às amostras no mesmo volume (1 mL), sendo observado perfis cromatográficos diferentes nas amostras testadas. Os picos presentes nas amostras com acetato de etila foram sete (n=7). Já no éter etílico estavam presentes seis (n=6) desses picos, os mesmos do acetato de etila com exceção do pico com TR 13.3 (Tabela 5). Já nas amostras com o n-hexano, obtiveram-se somente cinco (n=5) picos. Com base nesse resultado, optou-se por continuar as análises utilizando o solvente acetato de etila, que também já é adotado na rotina do laboratório do setor de Drogas Psicoativas da PCI/SRJOI.

Tabela 5 – Picos presentes nos cromatogramas das análises com diferentes solventes para extração das substâncias de interesse a partir da análise em GC-MS

TR	Íons monitorados			Sugestivo de:	Acetato de etila	Éter etílico	n-hexano
9.5	58	91	65	MA/Pseudoefedrina	✓	✓	✓
13.3	44	135	77	MDA	✓	X	✓
14.1	58	77	135	MMDPPA	✓	✓	✓
15.2	135	77	51	(2R)-3-(1,3-Benzodioxole-5-yl)-2-metilpropan-1-ol	✓	✓	✓
17.6	194	109	67	Cafeína	✓	✓	X
18.2	135	77	207	N-acetil-3,4-metilenodioxianfetamina	✓	✓	X
24.2	163	135	204	3,4-metilenodioxifenil-2-propanona	✓	✓	✓

Fonte: elaborado pela autora

O artigo de Kuwayama et al. (2006) utilizou o acetato de etila como solvente de extração, onde usaram 0,2mL de acetato de etila na técnica de LLE com 100 mg da amostra e 1mL de tampão pH 7. Foram observados analitos como: MA, N-formilmetanfetamina, dimetilanfetamina, N-acetilanfetamina e N-acetilefedrina.

Uma metodologia utilizando n-hexano e clorofórmio foi descrita por Makino et al. (2003), também por LLE. Neste trabalho, diferentemente do que observamos nos testes realizados, os pesquisadores identificaram mais analitos de interesse como: efedrina, MDA, MDMA, MA, ketamina, MDEA e cafeína. Segundo os autores, a efedrina tem baixa solubilidade em n-hexano e foi impossível detectar efedrina utilizando esse solvente, por isso os autores utilizaram o clorofórmio (um solvente tóxico) nos comprimidos que continham efedrina.

O acetato de etila é um solvente relativamente seguro podendo ser solúvel em água, éter, álcool e clorofórmio. Entre os solventes avaliados, o acetato de etila é considerado menos poluente (Welton, 2015; Pinto et al., 2019). Além disso, o acetato de etila tem uma menor taxa de evaporação em comparação com o éter etílico e o n-hexano. Isso significa que menos quantidade de acetato de etila é liberada para o ambiente durante o uso. As emissões reduzidas ajudam a minimizar a poluição do ar e o potencial impacto negativo na qualidade do ar, além da menor exposição do analista (Welton, 2015; Pinto et al., 2019).

Desta forma, o acetato de etila foi o solvente com melhor custo-benefício considerando a obtenção de melhor perfil cromatográfico em relação aos demais testados.

4.1.2.3 *Tempo de agitação*

Inicialmente foram testadas as variações 1, 2 e 3 de tempo de agitação no vórtex para análise do perfil de cromatograma. Os tempos foram de 5 e 10 minutos na variação 1, na variação 2 utilizou-se 10 e 5 minutos, respectivamente. Já na variação 3, temos 10 minutos para ambos os tempos de agitação 1 e 2. É possível observar, conforme Tabela 6, que os picos nos TR selecionados foram constatados nos cromatogramas das três variações iniciais (Tabela 5).

Tabela 6 – Picos cromatográficos das amostras de acetato de etila em relação ao tempo de agitação em 3 variações diferentes a partir da análise em GC-MS

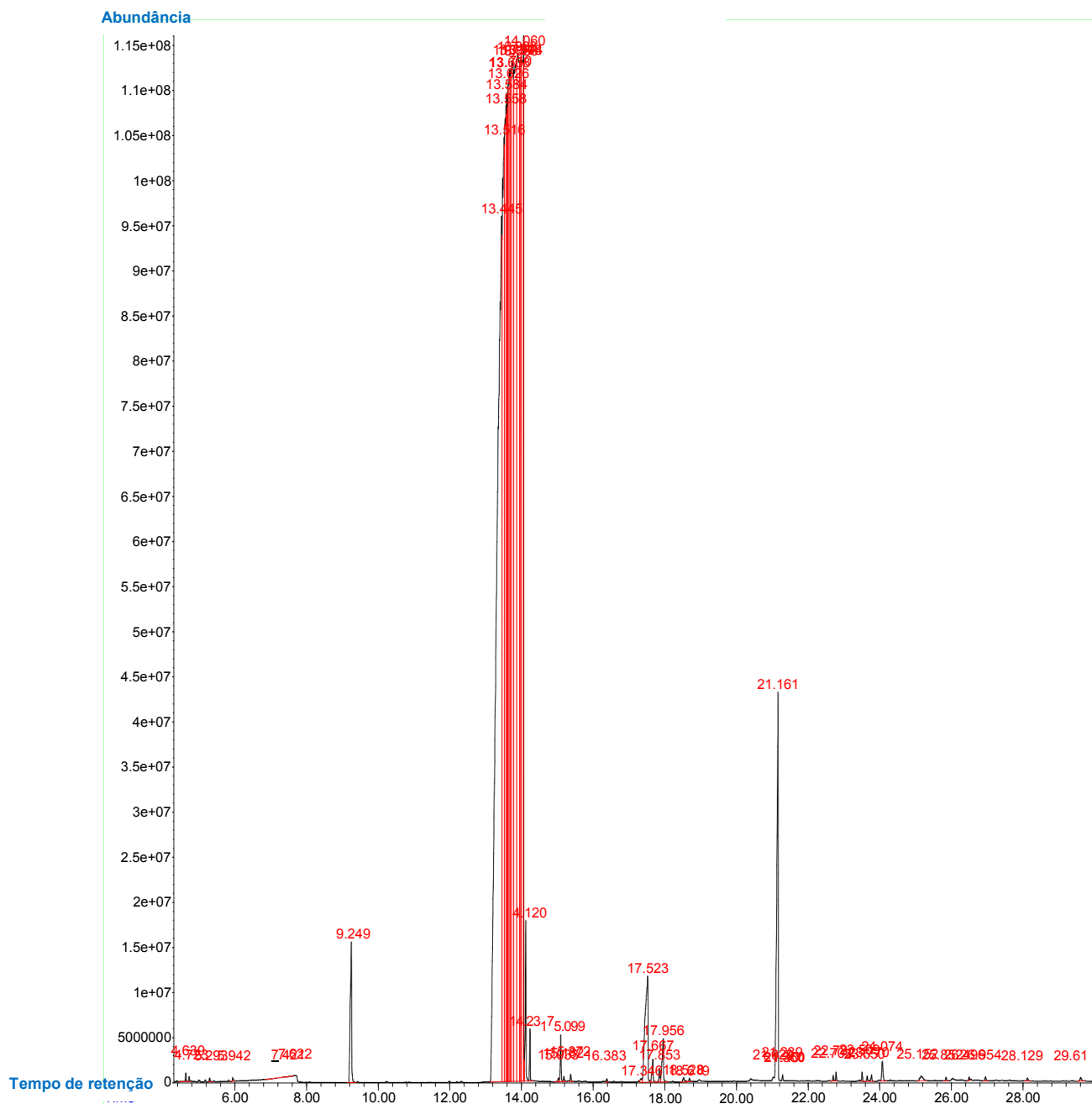
TR	Íons monitorados			Sugestivo de:	Variações de vórtex		
					Variação 1	Variação 2	Variação 3
9.5	58	91	65	MA/Pseudoefedrina	✓	✓	✓
13.3	44	135	77	MDA	✓	✓	✓
14.1	58	77	135	MMDPPA	✓	✓	✓
15.2	135	77	51	(2R)-3-(1,3-Benzodioxole-5-yl)-2-metilpropan-1-ol	✓	✓	✓
17.6	194	109	67	Cafeína	✓	✓	✓
18.2	135	77	207	N-acetil-3,4-metilenodioxianfetamina	✓	✓	✓
24.2	163	135	204	3,4-metilenodioxifenil-2-propanona	✓	✓	✓

Fonte: elaborado pela autora

As variações 4, 5 e 6, foram testadas com menores tempos de agitação a fim de agilizar o processo para que possa ser implementado na rotina laboratorial. Com isso, as variações testadas foram de 5 minutos antes e 5 minutos (variação 4) após a adição de solvente. Também a variação de 3 minutos (variação 5) e 1 minuto (variação 6) para ambas as agitações em vórtex.

Conforme Figura 9, podemos observar que não houve mudança no perfil cromatográfico das amostras das variações de 5 minutos, 3 minutos e 1 minuto. Portanto, optou-se por continuar as análises com tempo de 1 minuto de agitação para ambas as etapas, a fim de facilitar e tornar a rotina dessas análises mais rápida.

Figura 9 – Cromatograma das variações 4 (5min), 5 (3min) e 6 (1min) respectivamente em relação ao tempo de vórtex para as amostras de *ecstasy* para análise em GC-MS .9a- variação 4; 9b- variação 5 e 9c- variação 6



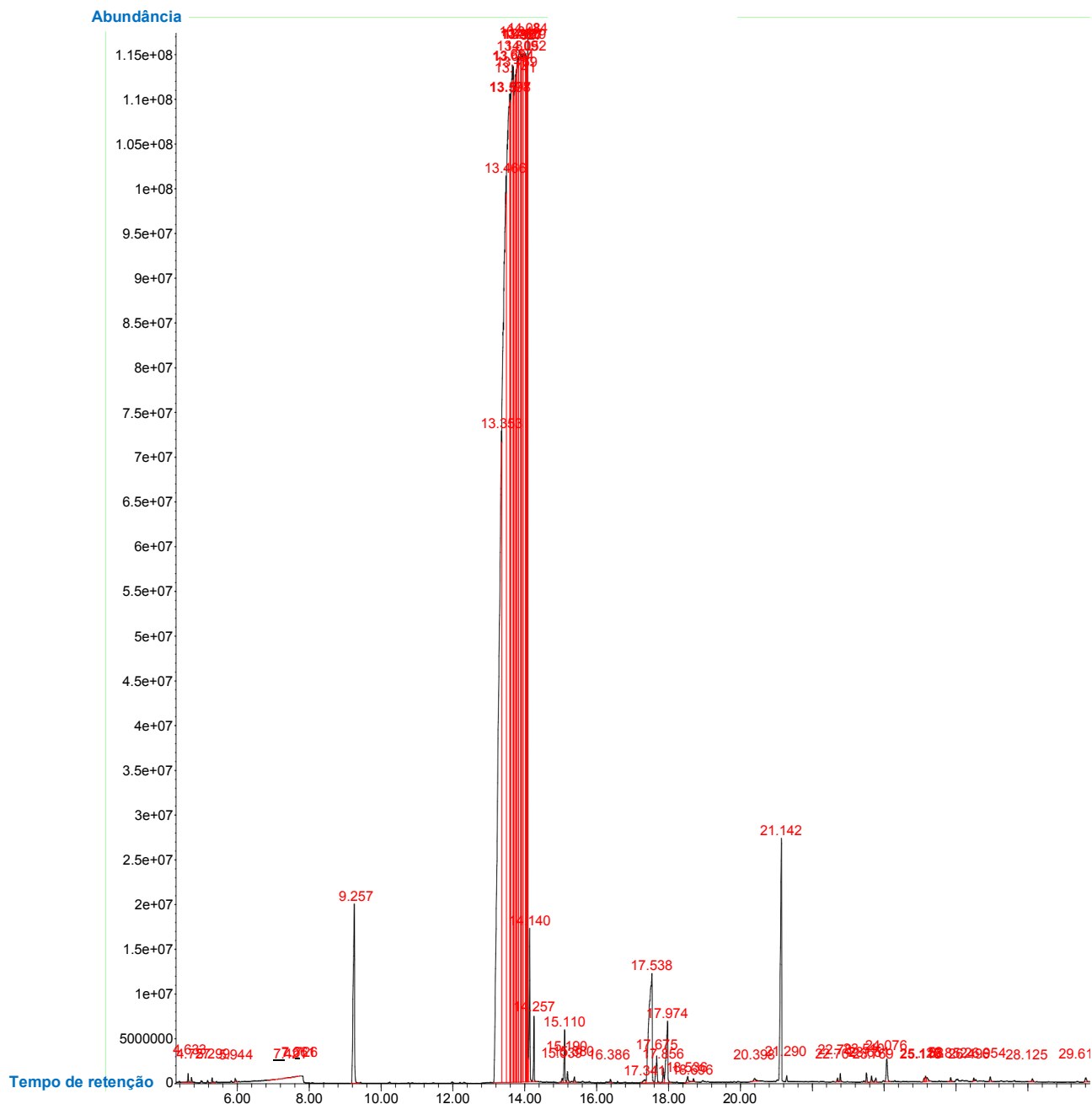


Figura 9c

Fonte: elaborado pela autora

Alguns trabalhos citam em sua metodologia o uso do vórtex como aliado na extração dos analitos, como, por exemplo, o artigo de Van Deursen et al. (2006) onde as amostras de MDMA foram agitadas e sonicadas por 10 minutos. Já na metodologia

de Palhol et al. (2002), a suspensão obtida a partir de comprimidos de MDMA foi extraída por agitação vigorosa por 5 min com 1 mL de solvente.

Em outro estudo feito por Jalali et al. (2006) a amostra foi agitada por 10 min antes da centrifuga. Nesse estudo, 8 amostras de *ecstasy* foram analisadas em GC-MS referentes as impurezas encontradas. Os compostos MDMA, ketamina e anfetamina foram detectados, porém nenhum precursor foi analisado.

Nos artigos de Cheng et al. (2006); Teng et al. (2006); Makino et al. (2003) a agitação da suspensão de comprimidos foi realizada durante 5 min. O primeiro trabalho identificou cafeína, piperonal, MDB, piridina e N-formil-MDMA. Teng et al. (2006) detectou MDMA, cafeína, MA, MDEA e anfetamina, porém utilizou diclorometano para preparar as amostras dos comprimidos.

Já Makino et al. (2003), identificou efedrina, MDA, MDMA, MA, ketamina, MDEA e cafeína. Entretanto, utilizou de 3mL de n-hexano em volume maior ao testado no presente estudo (Couri; Milks, 1982; Tshala-Katumbay et al., 2009).

Swist et al. (2005b) trabalhou com o maior tempo de agitação, 25 min, para extração de suas amostras. O MDMA foi sintetizado neste trabalho para comparar o pH neutro e básico no perfil de impurezas, sendo, portanto, analisadas diferentes substâncias.

Conforme descrito, podemos observar que não há um padrão de tempo de agitação dentre os trabalhos referenciados. Desta forma, o presente estudo, traz a avaliação dos diversos tempos de agitação e demonstra que não houve diferença no perfil dos cromatogramas. Assim, optou-se por continuar com o menor tempo testado, 1 minuto (variação 6).

4.1.2.4 Solução tampão

Foram avaliadas soluções com os pHs 7, 10 e 12.5, sendo observado que a condição mais favorável foi no pH 12.5. Apesar de todos os pHs apresentarem todos os picos de interesse (Figura 10a), avaliando-se os cromatogramas resultantes, o pH

12.5 foi o que apresentou maior área para os picos (Figura 10b), portanto optou-se por continuar as análises com o acréscimo de 1mL do tampão carbonato 0,1M pH 12.5.

Figura 10 – Análise dos diferentes pHs na preparação de amostra de comprimidos de *ecstasy*. Figura 10a - Variação de pH nas análises com acetato de etila em comparação com a quantidade de grupo de íons em amostras de *ecstasy* a partir da análise em GC-MS. Figura 10b- Comparação da área do pico do MDA (TR 13.3 min) para os 3 pHs diferentes (7, 10 e 12.5)

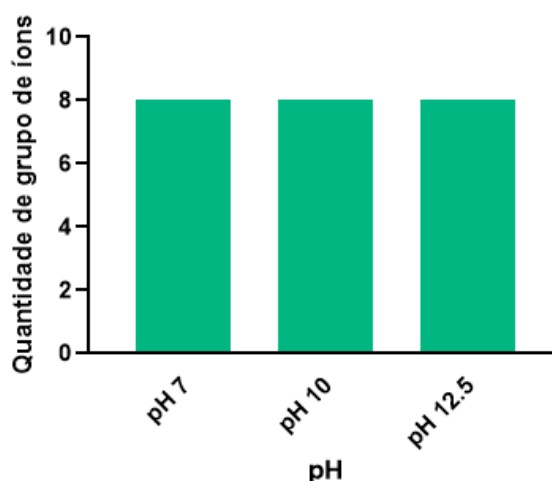


Figura 10a

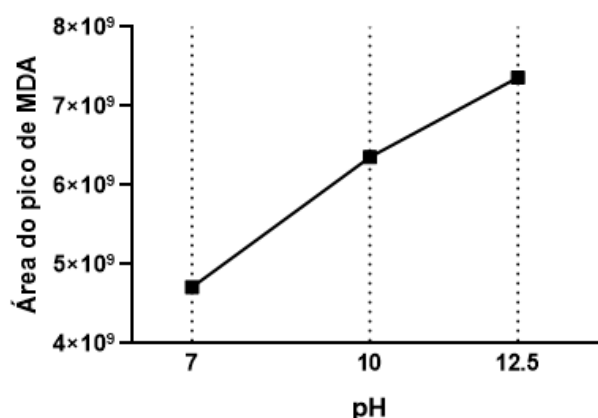


Figura 10b

Fonte: elaborado pela autora

Há relatos na literatura sobre a eficiência das condições de pH neutro e básicas sobre as ácidas para extrair as impurezas dos comprimidos de *ecstasy*. Na metodologia de Van Deursen et al. (2006), um comprimido inteiro de MDMA foi triturado e adicionado a 4 mL de tampão fosfato pH 7. O mesmo pH 7 foi utilizado também por Kuwayama et al. (2006) com adição de tampão fosfato. No artigo de Van Deursen et al. (2006) foram analisados ainda os pHs 5 e 1 e comparados com o pH 7 que ainda assim obteve o melhor perfil de extração. Nos 82 comprimidos analisados

foram identificadas algumas substâncias como: safrol, piperonal, MDEA, N-formil-MDA, entre outras.

Já para Palhol et al. (2002), 150 mg do pó homogêneo foi adicionado a 1 mL de tampão carbonato em pH 10. Esse pH também foi utilizado por Jalali et al. (2016) e Świst et al. (2005b) através da adição de uma solução de carbonato de sódio a 10% e tampão carbonato, respectivamente. Świst et al. (2005b) chegaram a avaliar a influência do pH neutro (pH=7) e básico (pH=10) no perfil de impurezas do MDMA. Neste estudo, foi sintetizado o MDMA a partir da reação de Leuckart e concluíram que sob condições básicas, o perfil de impurezas era mais eficiente no que se refere às rotas das impurezas específicas.

Cheng e pesquisadores (2006) utilizaram solução tampão fosfato a pH 11.5 para analisar comprimidos de *ecstasy*, resultando na identificação de cafeína, piperonal, MDB, piridina e N-formil-MDMA. Já no artigo de Gimeno et al. (2002), foi utilizada solução básica de pH 12.8 e foram detectadas impurezas como PMMA e 3-4,metilenodioxo-N,N-dimetilbenzilamina.

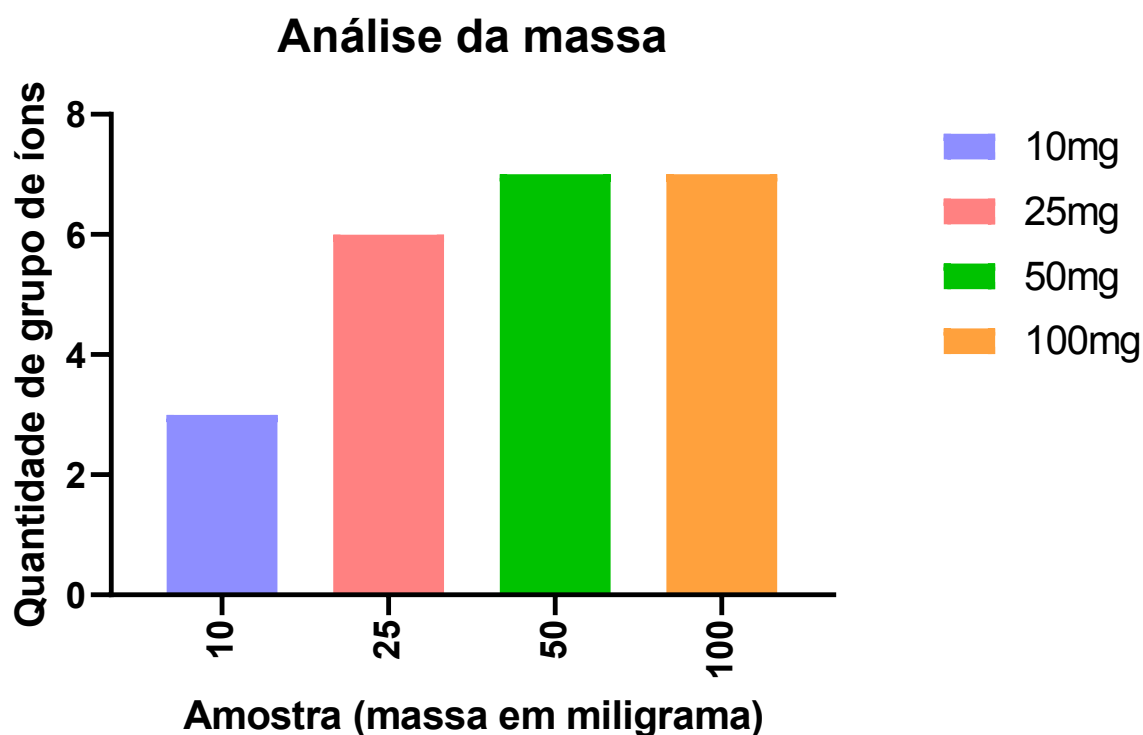
Desta forma, podemos observar diferentes propostas na literatura acerca do pH adotado para melhorar a extração de impurezas dos comprimidos de *ecstasy*. Entretanto, cabe ressaltar que a extração apresenta melhor perfil quando em ambiente básico. Quando adicionamos um tampão básico, aumentamos o pH do meio de extração, isso faz com que as bases fracas fiquem em maior quantidade em sua forma não ionizada e apresentando maior afinidade com a fase orgânica e dessa maneira melhor extraídas com adição do solvente, exatamente o que ocorre com os analitos de interesse deste trabalho (Świst et al., 2005b).

Em trabalhos publicados por Świst e colaboradores é discutido que os pHs mais alcalinos teriam uma extração excessiva de MDMA, o que poderia prejudicar a eluição de outras substâncias de interesse. Entretanto, no presente trabalho, foi ajustada a voltagem de elétrons do espectrômetro de massas, nos TR próximos a eluição do MDMA e MDA, para diminuir o sinal no cromatograma (Świst et al. 2005a; Świst et al. 2005b).

4.1.2.5 Massa do comprimido

As massas testadas de amostra foram 10, 25, 50 e 100 mg. Observou-se que na massa de 10 mg foram identificados 3 picos e na de 25 mg somente 6 picos no cromatograma. Já no caso da massa de 50 e 100mg ambos contemplavam os 7 picos de interesse (Figura 11). Portanto, as análises prosseguiram utilizando-se 50 mg como massa de amostra.

Figura 11 – Análise da massa da amostra em relação a quantidade de grupos de íons (picos de interesse) em amostras de *ecstasy* analisados em GC-MS



Fonte: elaborado pela autora

Comparando com outros trabalhos que utilizaram dos comprimidos de *ecstasy* para identificação, temos que Jalali et al. (2016) e Khajeamiri et al. (2011) utilizaram 5

mg. No primeiro trabalho foram identificados MDMA, ketamina e anfetamina. No segundo, foram encontrados MDMA, ketamina, fenmetrazina e efedrina (ou pseudoefedrina).

O dobro da massa foi utilizado nos trabalhos de Togni et al. (2015) e Gimeno et al. (2002), ambos com massa de 10 mg de comprimido para as análises. O primeiro identificou MDMA, cafeína, 2C-B, piperazinas, anfetaminas, fenciclidina e outros. Já o segundo encontrou nos comprimidos de MDMA as seguintes impurezas: isosafrol, piperonal, safrol, anfetamina, MA e outros diversos intermediários de síntese.

Já Wood et al. (2011) utilizou 25 mg, executando quantificação de MDMA, sem contemplar outras substâncias. A massa de 30 mg foi utilizada por Cheng et al. (2006) para identificação de precursores, cafeína, estazolam, MDA e MA, dímero MDA, dímero MDMA, MDB, piperonal e álcool piperonil.

McManaman et al. (2014), Giebink, Smith (2011), Bonadio et al. (2009) e Świst et al. (2005b) utilizaram-se de 200 mg do comprimido triturado para suas análises. Essa quantidade é considerável podendo saturar o equipamento de detecção a depender do preparo da amostra.

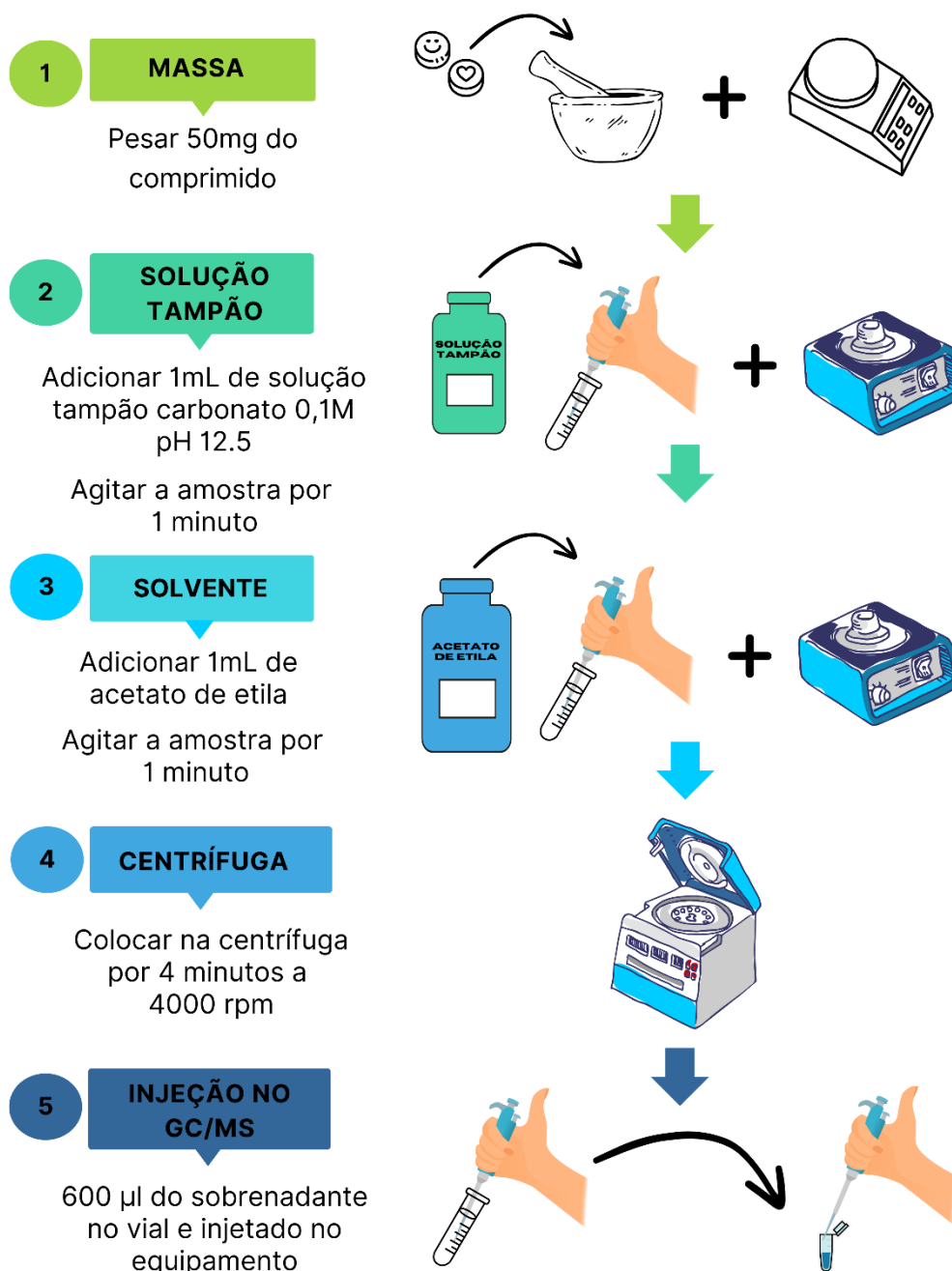
As referências acima citadas, ou utilizam quantidades de amostra menores que o presente trabalho ou muito superiores. As amostragens de 50 e 100 mg avaliadas demonstram um número maior de substâncias no cromatograma, porém com uma maior massa também corremos o risco de sobrecarregar o equipamento (GC-MS) (Collins et al., 2006).

Isso ocorre devido à uma sobrecarga na coluna cromatográfica, excedendo o seu limite e causando má separação dos analitos, resultando em picos distorcidos e diminuindo a sensibilidade e precisão da análise (Collins et al., 2006). Também há o favorecimento de dano ao equipamento ao acumular impurezas na coluna, injetor ou detector, afetando o desempenho e exigindo manutenção mais frequente. Portanto, optou-se por continuar com a massa de 50mg.

Uma vez finalizado o processo de avaliação do preparo das amostras de comprimidos do tipo *ecstasy*, o método final obtido foi: 50 mg do comprimido triturado,

adicionar 1 mL do tampão carbonato 0,1M pH 12.5, agitar em vórtex durante 1 min, adicionar 1 mL de acetato de etila, agitar por mais 1 min, centrifugar durante 4 min a 4000 rpm. Após isso, retirar 600 μ L do sobrenadante, transferir para *vial* e injetar a amostra em GC-MS (Figura 12).

Figura 12 – Método final para preparação de amostra de ecstasy por GC-MS

METODOLOGIA FINAL:

Fonte: elaborado pela autora

O preparo de amostra, no setor de Drogas Psicoativas da PCI/SRJOI era realizado pesando uma porção indefinida do comprimido triturado com adição de 1 mL de acetato de etila + 1 gota de amônia, agitando o sistema manualmente ou em vórtex sem tempo pré-definido, centrifugação por 4 min a 4000 rpm, retirado 50µL do sobrenadante em *vial* + 450µL de acetato de etila. A metodologia proposta mostra-se com maior potencial para a obtenção de um perfil cromatográfico mais informativo podendo abranger a detecção de precursores ou impurezas características do processo de fabricação de *ecstasy*, e, portanto, contribuindo para a determinação do perfil químico de amostras apreendidas.

Existem diversos estudos sobre metodologias para análise desses comprimidos de *ecstasy* (Tabela 7). O trabalho em questão focou no que era reprodutível na PCI/SRJOI, ou seja, considerando os recursos disponíveis para as etapas de preparo de amostra e análise. Comparando com os demais trabalhos publicados, o método desenvolvido utilizou um volume pequeno de solvente orgânico com tempo de agitação reduzido (1 min).

Tabela 7 – Comparação do preparo da amostra do presente estudo, artigos da literatura e da metodologia inicial da PCI/SRJOI para análise de *ecstasy* em GC-MS

Artigo/ metodologia	Massa da amostra	pH do tampão	Solvente	Ultrassom	Vórtex	Centrífuga	Qt. de substâncias detectadas
Presente trabalho	50mg	12.5 – 1 mL	Acetato de etila – 1mL	Não	1 min	4 min – 4000 rpm	7
PCI/SRJOI	Porção do comprimido	Não utiliza	Acetato de etila -1 mL + 1 gota de amônia	Não	Não definido	4 min – 4000 rpm	-
Cheng et al., 2006	30mg	11.5 – 1 mL	Éter dietílico - 1,5 mL	Não	5 min	Sim	5
Giebink & Smith, 2011	10 mg	7.0 -10 mL	n-hexano – 3 mL	Não	5 min	Não	2
Gimeno et al., 2002	80 mg	12.8 – 5 mL	Éter dietílico – 3 mL	Não	Não	Não	26
Jalali et al., 2016	5 mg	10.0 – 750 µL	Éter dietílico – 2mL e Metanol - 500µL	Não	10 min	3500 rpm	3
Khajeamiri et al., 2011	5 mg	2.0	Éter dietílico – 2mL e Metanol - 500µL	Não	10 min	3500 rpm	4
Kuwayama et al., 2008	100 mg	7.0 – 1 mL	Acetato de etila – 0.2 mL	Não	Não	Não	5

Lapachinske et al., 2004	5mg	Não	Metanol – 5 mL	10 min	Não	5 min – 300 g	4
Makino et al., 2003	10 mg	7.0 – 8 mL	n-hexano – 3 mL	Não	5 min	10 min – 3500 rpm	7
McManaman et al., 2014	200 mg	7.0 – 4mL	Tolueno - 400 µL	10 min	10 s / 2 min	8 min / 10 min	8
Palhol et al., 2002	150 mg	10.0 – 1 mL	Diclorometano – 1mL	Não	5 min	Não	20
Świst et al., 2005b	200 mg	7.0 e 10.0 – 2mL	n-heptano - 200 mL	Não	25 min	Não	13
Teng et al., 2006	1 comprimido	0.2M KOH – 3 mL	Diclorometano -3 mL	Não	5 min	5 min – 3000 rpm	5
Togni et al., 2015	10 mg	Não	Metanol – 8mL	Não	3 min	5 min – 14.674g	8
Van Deursen et al., 2006	1 comprimido	7.0 – 4mL	Tolueno	10 min	10 min	8 min – 4500 rpm	18

Fonte: elaborado pela autora

4.1.3 Validação do método

4.1.3.1 Precisão

Para a precisão intradia foram utilizados dois *pools* diferentes 1 e 2, analisados em quintuplicata e calculado média das áreas dos picos, desvio padrão e CV para cada TR. Tanto para o *pool* 1 quanto para o 2 temos que no dia zero (mesmo dia que as amostras foram trituradas) os CV ficaram abaixo de 20% (Tabela 8). Os resultados apresentados foram homogêneos, corroborando com o fato de que a análise dos dados não foi aleatória, mas sim, precisa.

Porém, na precisão interdia é possível observar valores maiores de CV. Provavelmente, isso ocorre devido à falta de estabilidade dos comprimidos que foram triturados no dia da análise de precisão intradia (conforme se observa também nos ensaios de estabilidade abaixo descritos). Foi observado que as áreas dos picos diminuíram consideravelmente e conseqüentemente o CV dos TR quando analisados em relação ao dia 1 foram altos. Entretanto, é preciso ponderar que a precisão deverá ser reavaliada quando na disponibilidade de padrões analíticos já que poderão gerar dados mais confiáveis de validação analítica.

Tabela 8– Comparação dos CV (%) entre os ensaios de precisão intradia e interdia para os *pools* 1 e 2.

TR	Precisão intradia (%CV)		Precisão interdia (%CV)	
	POOL 1	POOL 2	POOL 1	POOL 2
9.5	6.0	3.2	24.8	20.0
13.3	0.9	4.4	10.3	10.8
14.1	5.9	7.1	18.6	18.9
15.2	Não identificado ¹	Não identificado ¹	Não identificado ¹	Não identificado ¹
17.6	1.6	18.2	23.7	37.7
18.2	7.8	6.3	19.3	23.4
24.2	15.9	10.8	31.5	22.0

¹ Não identificado pois nesses *pools* não tinham essas substâncias, portanto não houve aparecimento de pico no cromatograma correspondente ao TR dessas substâncias.

Fonte: elaborado pela autora

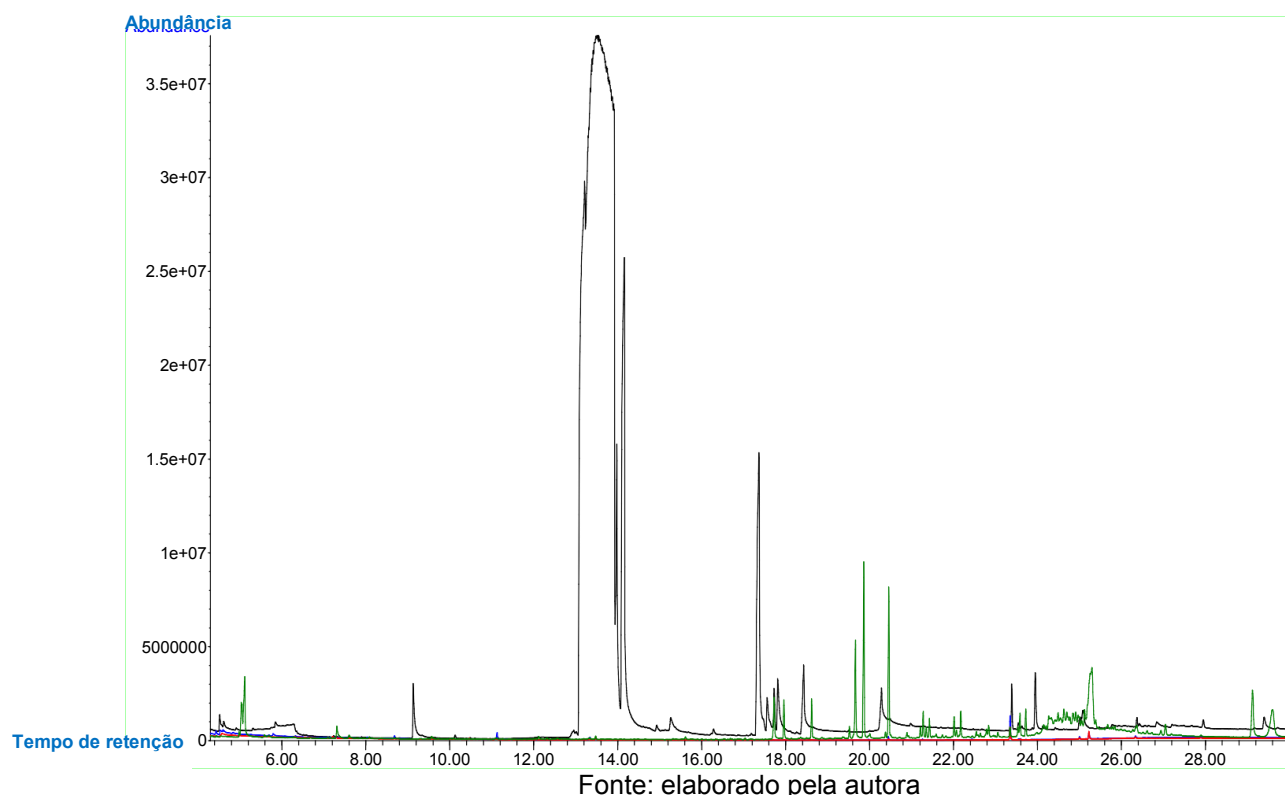
4.1.3.2 Seletividade

Em relação a seletividade do método, foram analisados dois excipientes que geralmente são adicionados na composição dos comprimidos: estearato de magnésio e celulose, substâncias utilizadas como aglutinante ou emulsionante.

Também foi analisada pelo método de GC-MS desenvolvido pelo trabalho uma amostra somente com acetato de etila para comprovar a ausência de interferência desse solvente nas análises propostas.

Na Figura 13, é possível observar que não há interferentes no TR dos analitos de interesse quando injetado acetato de etila ou os excipientes. Assim, nenhum TR de importância está conflitando com os picos das substâncias analisadas nos cromatogramas. Portanto, seria possível inferir que os picos realmente são relacionados com MDA/MDMA ou precursores e não a qualquer outra substância ou excipiente utilizado para fabricação dos comprimidos.

Figura 13 – Cromatogramas plotados de uma amostra do *pool* de *ecstasy* (cor preta) comparado com uma amostra de solvente acetato de etila (cor azul), estearato de magnésio (cor verde) e celulose (cor vermelha) em análise de GC-MS



4.1.3.3 Efeito residual (*carryover*)

O efeito residual (*carryover*), conforme a Figura 14, foi avaliado através da corrida do acetato de etila antes e depois da amostra do *pool 2*. Uma primeira corrida foi realizada com o acetato de etila 1 (Figura 14a) para comparação da corrida do acetato de etila após a amostra do *pool 2*.

Na análise do acetato de etila 2 (Figura 14b), logo após a corrida do *pool 2*, tem a presença de um pico com TR de 27.8 min, que não coincide com nenhum dos TR de interesse definidos no trabalho, como é possível observar pelo cromatograma

da configuração 9 da metodologia do GC-MS onde obtivemos o melhor perfil cromatográfico (Figura 14d).

É possível observar também, que uma segunda corrida de acetato de etila foi feita após a amostra (Figura 14c) e não contém o pico com TR de 27.8 min que aparece no primeiro branco pós *pool*. Então, apesar do aparecimento do pico no TR 27.8 min, nenhum dos picos coincidiu com os picos presentes no perfil das amostras testadas de *ecstasy* (Figura 12d) e, portanto, não consideramos como efeito residual.

Figura 14 – Cromatogramas do acetato de etila 1 (14a), acetato de etila 2 (14b) e acetato de etila 3 (14c), amostra da configuração 9 (14d) respectivamente.

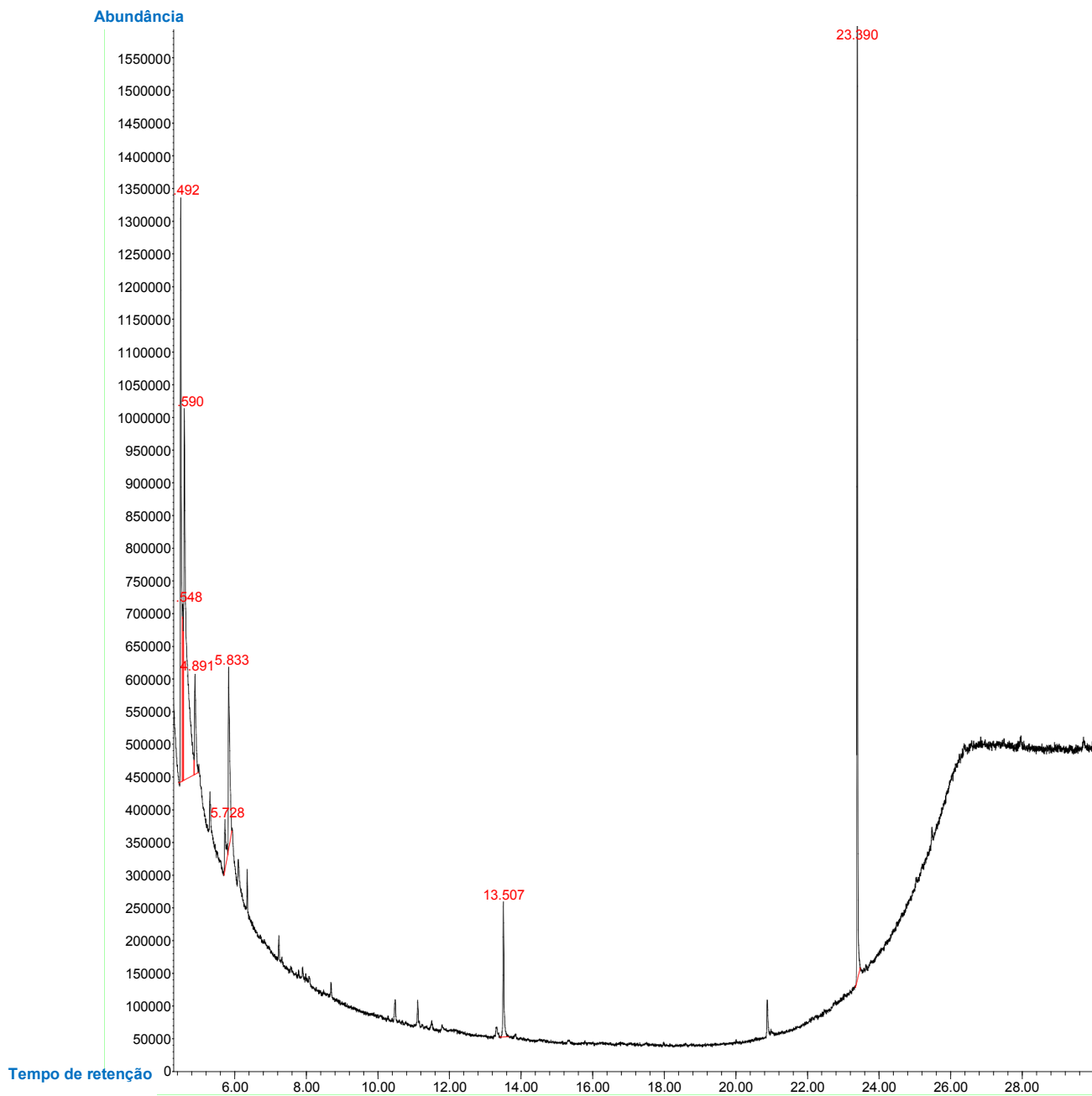


Figura 14a

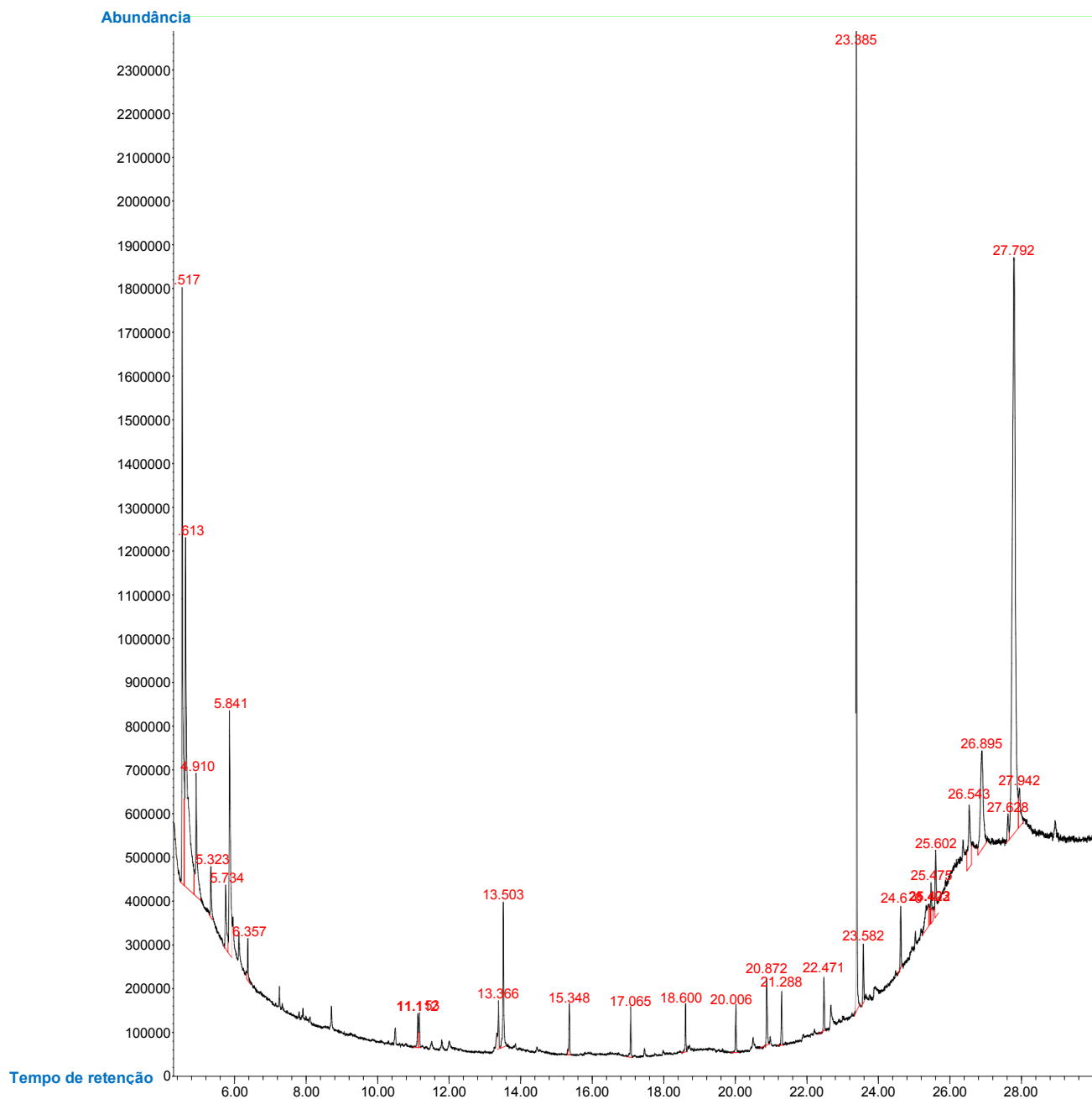


Figura 14b

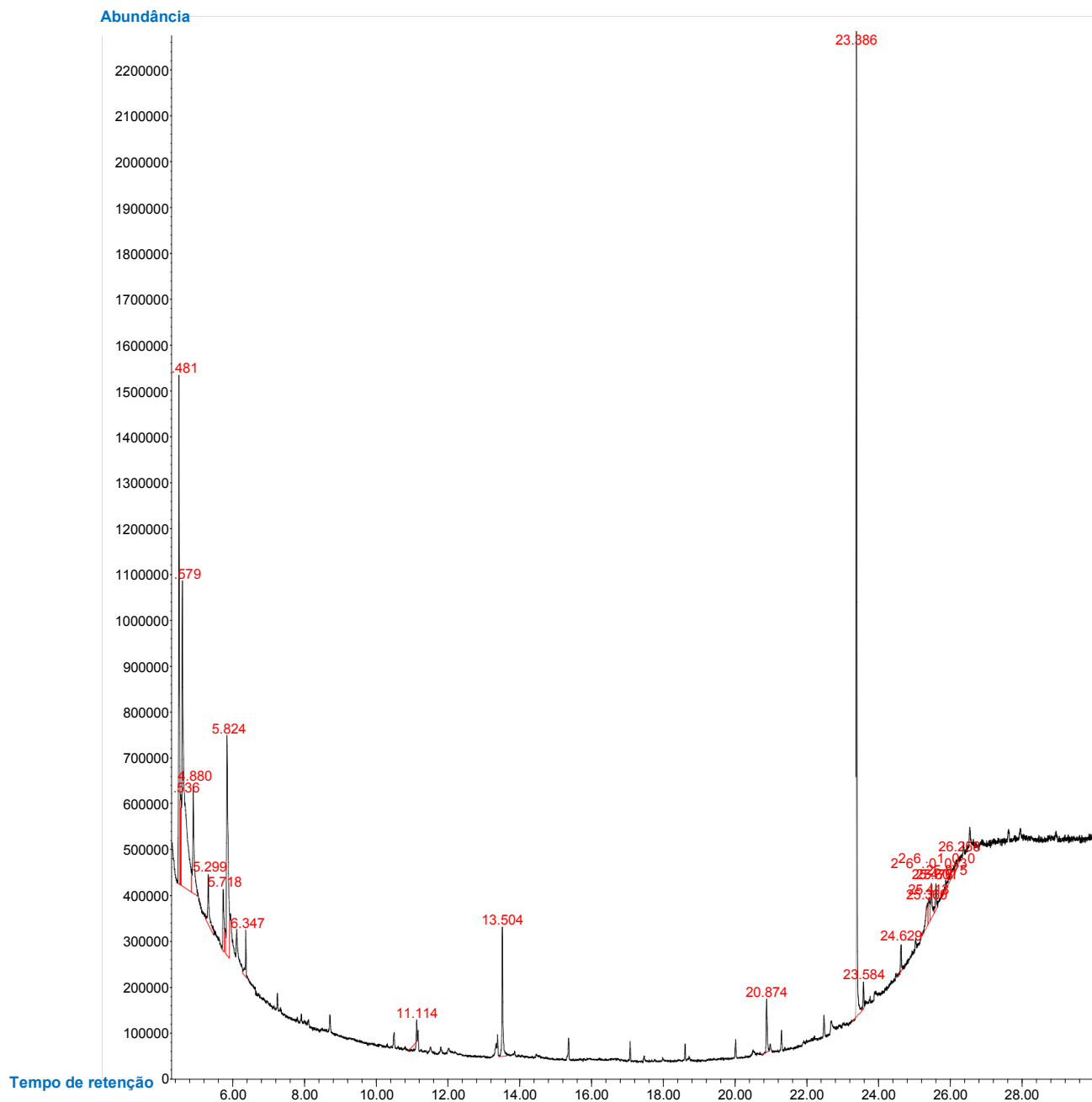


Figura 14c

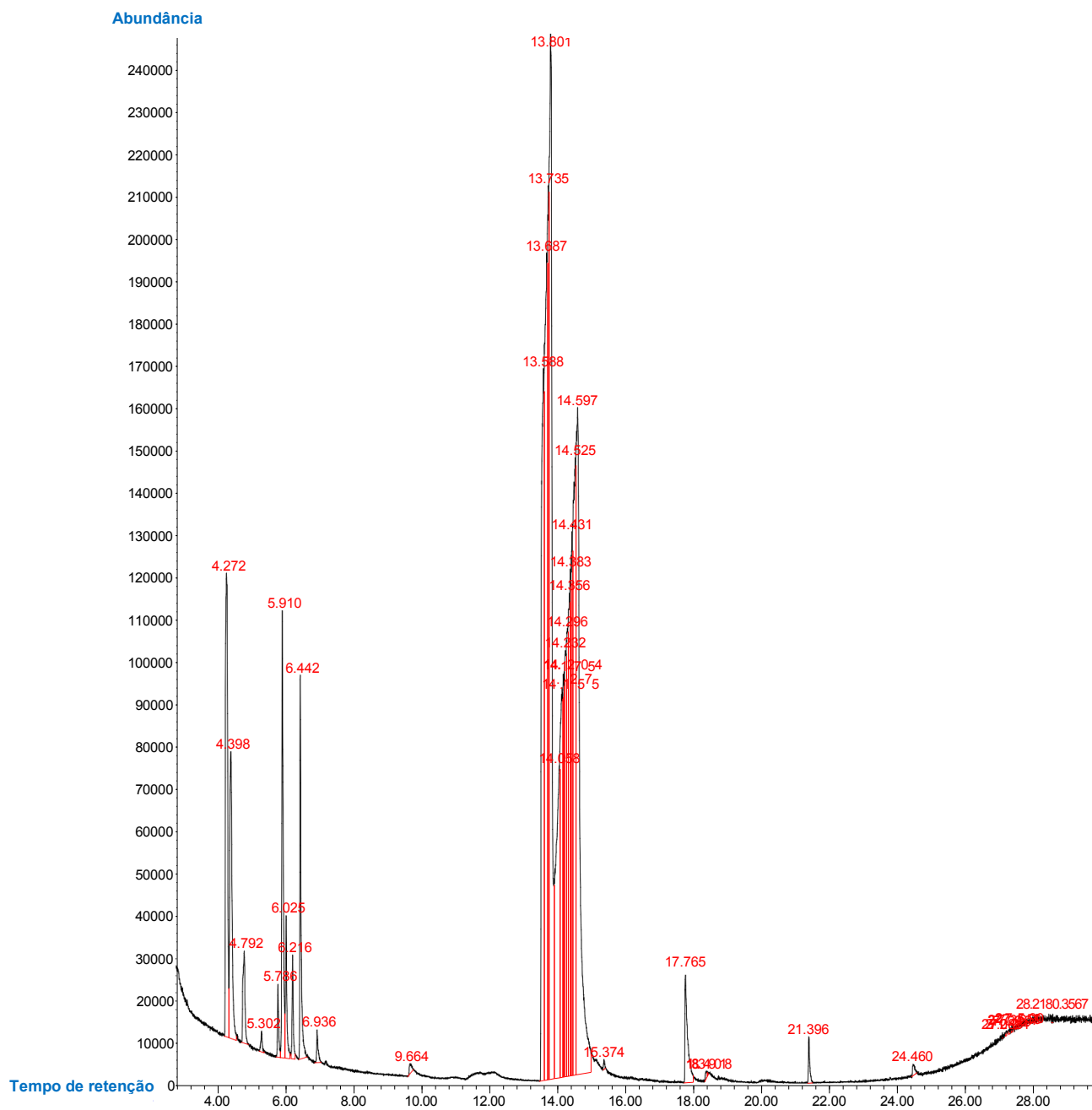


Figura 14d

Fonte: elaborado pela autora

4.1.3.4 Estabilidade

A estabilidade das amostras de pré-processamento foi avaliada e observou-se que os CV da área dos picos de interesse não se mantiveram estáveis no tempo trinta dias, conforme Tabela 9.

Alguns picos se mantiveram estáveis até o tempo 30, porém não é possível assegurar que todos os picos permanecerão estáveis até a análise após 30 dias. Também é importante ponderar sobre o armazenamento dessas amostras que consistiu em somente armazenar em tubo falcon fechado, porém não foi protegido da luz e somente mantido em temperatura ambiente. Essas condições podem ter sido uma limitação e possível interferente nos resultados.

Salienta-se ainda que a estabilidade foi avaliada em relação à área dos picos, o que afetaria diretamente uma análise quantitativa. Foi possível observar que o pico em 15.2 min desapareceu no teste de 30 dias. Portanto, para uma análise qualitativa o método ainda poderia ser adequadamente aplicado até o tempo de 15 dias.

No estudo De La Fuente et al., 2020, analisaram as variáveis de tempo de armazenamento, pureza inicial da amostra (anfetamina), temperatura e umidade do local de armazenamento de amostras de comprimidos de anfetamina. As amostras foram armazenadas em temperatura ambiente de 22,14°C e umidade de 66,36% e em temperatura refrigerada de 4,7°C e umidade de 28,29%. Foram analisados em 12, 24 e 32 meses. Somente no mês 32 que obtiveram degradação significativa de -6,43 % dos analitos. Os autores não observaram diferença de resultado em alta e baixa concentração de anfetamina na amostra, e nem disparidades entre as diferentes formas de armazenamento (La Fuente et al., 2020).

Tabela 9 – Análise da estabilidade pré-processamento através da porcentagem de alteração da área nos tempos 7, 15 e 30 dias em relação ao tempo zero

TR	Porcentagem da variação da área (%)		
	Tempo 7 dias	Tempo 15 dias	Tempo 30 dias
9.5	2.5	12.3	10.6
13.3	9.6	3.4	19.0
14.1	4.0	4.0	5.9
15.2	4.9	9.9	não identificado ¹
17.6	4.1	11.8	8.0
18.2	8.1	4.9	2.1
24.2	4.4	10.5	0.3

¹ Pico não foi identificado no tempo de 30 dias, provavelmente por degradação da substância sugestiva desse pico.
Fonte: elaborado pela autora

Já em relação a estabilidade pós-processamento, na análise 12 horas após o tempo zero, é possível observar uma variação >20% na diferença da porcentagem da área de alguns picos, o que infere que a amostra não é mais estável (Tabela 10).

Nas análises subsequentes de 24 e 48 horas, o valor da porcentagem para alguns picos não é maior que o valor no tempo 12h, porém existe a possibilidade de a amostra ter concentrado devido a evaporação do acetato de etila presente no *vial*, já que a análise pós-processamento é feita através da injeção no GC-MS da mesma amostra do *vial* do tempo zero. Portanto, também não podemos garantir a estabilidade da amostra após o preparo e inserção da amostra no *vial* de injeção, embora os dados indiquem apenas a influência em uma possível análise quantitativa.

A validação analítica traduz a força de um processo ou metodologia, como é o caso, para demonstrar a sua aplicabilidade de maneira documentada e com base

em dados científicos. Também garante que os dados são precisos e confiáveis de maneira que possam ser reprodutíveis em outros laboratórios e operados por outros profissionais (Bhardwaj, 2016). Desta forma, a validação do método aprimorado por esse trabalho garante a confiabilidade da análise do perfil químico dos comprimidos do tipo *ecstasy* apreendidos quando aplicado conforme parâmetros definidos e descritos no procedimento operacional padrão (Apêndice A).

Tabela 10 – Porcentagem da variação dos tempos 12, 24 e 48 horas das análises de estabilidade pós diluição em relação a área dos picos no tempo 0

TR	Porcentagem da variação da área (%)		
	Tempo 12h	Tempo 24h	Tempo 48h
9.5	1.3	4.3	12.0
13.3	16.2	7.2	1.5
14.1	11.2	5.1	0.6
15.2	1.9	1.3	0.9
17.6	61.0	1.5	10.7
18.2	2.5	6.3	23.2
24.2	73.5	96.5	107.2

Fonte: elaborado pela autora

4.1.4 Amostras reais

As amostras reais foram selecionadas da casuística do setor de Drogas Psicoativas da PCI/SRJOL para serem testadas no método proposto por esse trabalho. Os comprimidos foram apreendidos em diferentes cidades de Santa Catarina,

conforme descrito na metodologia. Foram analisados apenas comprimidos com o mesmo desenho (“CNN”) para comparação do perfil de químico obtido.

Nessas amostras houve uma divergência em relação aos picos que aparecem no cromatograma. Os picos nos TR 13.3; 15.2; 18.2 e 24.2 foram os picos comuns em todos os comprimidos analisados, sendo respectivamente: MDA, (2R)-3-(1,3-Benzodioxole-5-yl)-2-metilpropan-1-ol, N-acetil-MDA e 3,4- metilenodioxifenil-2-propanona. Porém o pico 9.5 (MA) somente estava presente na amostra 4. O pico 14.1 (MMDPPA) não estava presente na amostra 5 e foi detectado nas demais. Portanto houve uma pequena divergência entre os comprimidos 4 e 5 em relação aos comprimidos 1, 2 e 3 (Tabela 11).

Os achados podem indicar que a amostra 4 pode ter sido oriunda de local/laboratório diferente das demais amostras, ou que foi utilizado uma outra substância de partida para a síntese desses comprimidos. O mesmo ocorreu para a amostra de número 5, que não teve a detecção do pico no TR de 14.1 min (MMDPPA), podendo ter sido sintetizado a partir de uma outra rota de síntese.

Tabela 11 – Comparação da análise de 5 diferentes apreensões de comprimidos de *ecstasy* com o mesmo desenho (CNN) em relação a detecção dos picos de interesse em análise no GC-MS

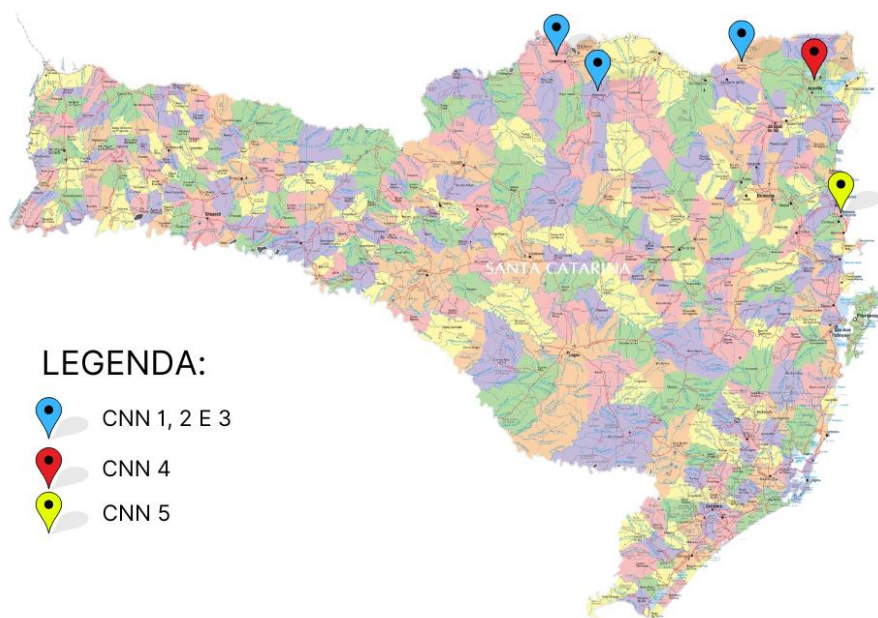
TR	Íons monitorados			CNN 1	CNN 2	CNN 3	CNN 4	CNN 5
	58	91	65					
9.5	58	91	65	X	X	X	✓	X
13.3	44	135	77	✓	✓	✓	✓	✓
14.1	58	77	135	✓	✓	✓	✓	X
15.2	135	77	51	✓	✓	✓	✓	✓
17.6	194	109	67	X	X	X	X	X
18.2	135	77	207	✓	✓	✓	✓	✓
24.2	163	135	204	✓	✓	✓	✓	✓

Fonte: elaborado pela autora

Os comprimidos CNN 1, 2 e 3 obtiveram o mesmo perfil de eluição dos picos no cromatograma dos íons monitorados. As amostras, respectivamente, são oriundas

de apreensões nas cidades de Papanduva, Canoinhas e Campo Alegre. Já o comprimido 4 são de Joinville e os CNN 5 são de Balneário Camboriú (Figura 15).

Figura 15 – Distribuição geográfica das apreensões dos comprimidos de *ecstasy* com desenho “CNN” no mapa de Santa Catarina



Fonte: adaptado IGBE (Ano desconhecido)

É possível observar que os comprimidos CNN 1, 2 e 3 que tiveram o mesmo perfil químico estão localizados mais a oeste das outras cidades. Isso pode trazer informação em relação à vinculação de origem entre as apreensões, com potenciais distribuidores ou laboratórios de síntese ou prensa desses comprimidos. Em contraste, poderíamos sugerir a hipótese de que os laboratórios e rotas de tráfico dos comprimidos que foram apreendidos em Joinville (CNN 4) e Balneário Camboriú (CNN 5) tiveram origem distinta dos demais e entre si.

Os dados indicam que a análise do perfil químico pode contribuir sobremaneira com a inteligência policial, de forma a sugerir potenciais rotas de tráfico e distribuição, desmantelamento de laboratórios clandestinos e investigações sobre a comercialização de produtos químicos utilizados na síntese de drogas sintéticas.

5 CONCLUSÃO

A técnica aprimorada e validada para análise de comprimidos de *ecstasy* permitiu identificar o perfil químico através da obtenção de cromatogramas mais informativos em relação a técnica implementada na rotina atual do laboratório. De forma que a metodologia proposta neste trabalho é capaz de acrescentar informações sobre a composição e rota de síntese dos comprimidos apreendidos.

A identificação do perfil químico de substâncias ilícitas, como de comprimidos do tipo *ecstasy*, é um desafio enfrentado pelos profissionais da área forense e da segurança pública. A falta de padrões analíticos para comparação e a ausência de um padrão secundário são limitações na validação de metodologias de identificação. Apesar da indisponibilidade dos padrões nos testes de validação, foi possível adaptar os principais testes para análise qualitativa de drogas de abuso recomendados pela UNODC e demais guias de validação, sendo possível comprovar a precisão do método analítico e a seletividade.

Outro aspecto importante do trabalho foi a análise da estabilidade pré e pós-processamento das amostras, já que por algumas vezes é necessário o reteste de alguns comprimidos. Com o resultado obtido ficou demonstrado que não há vantagens em utilizar uma amostra previamente tratada principalmente se a intenção é obter um perfil quantitativo, por outro lado, foi observado nos ensaios de estabilidade pré-processamento que não houve diferença no perfil cromatográfico observado por até 30 dias.

A metodologia final atingiu o objetivo do trabalho que era apresentar cromatograma mais informativo acerca do perfil químico das amostras testadas. Além disso, os picos sugestivos mostram substâncias que estão presentes nas etapas de síntese do MDMA/MDA podendo ser úteis para estudos sobre rotas de síntese.

Para as perspectivas futuras, o método poderá ser aplicado na rotina do laboratório para compilar dados sobre a composição dos comprimidos apreendidos a fim de utilização pela inteligência policial.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A. O.; SPANIOL, B.; LINDEN, R. **Canabinoides sintéticos: drogas de abuso emergentes**. Rev Psiquiatr Clín 2012; 39:142-8.
- AMATO, J. et al. **Identification of an acetal derivative of the piperonyl methyl ketone in tablets seized for suspected drug trafficking**. Forensic Toxicology, v. 32, n. 2, p. 311–316, 2014.
- AMBRÓSIO, J. C. L. **O crescimento do uso de drogas sintéticas “legais” no Brasil**. Revista Perícia Federal (29):22-5, 2012.
- ARANTES, L. C., DA SILVA, C. M., CALDAS, E. D. **Plastic antioxidants: A family of cocaine cutting agents analyzed by short column gas chromatography-mass spectrometry**. Journal of Chromatography, v. 1675, 2022.
- BAPTISTA, M. C., NOTO, A. R., NAPPO, S., CARLINI, E. A. **O uso de êxtase (MDMA) na cidade de São Paulo e imediações: um estudo etnográfico**. J. Bras. Psiquiatria, Rio de Janeiro, v.51, n.2, p.81-89, 2002.
- BAUMANN, M. H.; ROTHMAN, R. B. **Neural and Cardiac Toxicities Associated With 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA)**. International Review of Neurobiology, 2009.
- BHARDWAJ, Dr. Santosh. **A Review: GC Method Development and validation**. International Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry. 6. 1-7, 2016.
- BONADIO, F. et al. **Optimization of HS-SPME/GC-MS analysis and its use in the profiling of illicit ecstasy tablets (Part 1)**. Forensic Science International, v. 187, n. 1–3, p. 73–80, 30 maio 2009.
- BORGES, C. **Polícia apreende 230 mil comprimidos de ecstasy; maior apreensão registrada em SC, diz SSP**. G1 [Online] 23 set. 2021. Disponível em: <<https://g1.globo.com/sc/santa-catarina/noticia/2021/09/23/pm-apreende-230-mil-comprimidos-de-ecstasy-em-sc.ghtml>> Acesso em: 10 de ago. de 2023.
- BOTELHO, É. D. et al. **Chemical profiling of cocaine seized by Brazilian federal police in 2009-2012: Major components**. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 25, n. 4, p. 611–618, 2014.
- BOVENS, M.; SCHLÄPFER, M. **Designer drugs/research chemicals/legal highs: a survey of recent seizures and an attempt to a more effective handling from a Swiss perspective**. Toxichem Krimtech; 78:167-75, 2011.
- BRASIL, Portaria n.º 344, de 12 de maio de 1998. **Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial**.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 899, de 29 de maio de 2003, dispõe da publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos"**, DF, 29 de mai. 2003.

BULCÃO, R. et al. **Designer drugs: aspectos analíticos e biológicos**. Química Nova [online], v. 35, n. 1; p. 149-158, 2012.

CAJANDING, R. J. M. **MDMA-Associated Liver Toxicity: Pathophysiology, Management, and Current State of Knowledge**. AACN Advanced Critical Care, 30(3), 232–248, 2019.

CATUCCI, A. **Operação mira quadrilha de tráfico de drogas sintéticas instalada no Litoral Norte de SC**. G1 [Online] 16 jun. 2021. Disponível em: <<https://g1.globo.com/sc/santa-catarina/noticia/2021/06/16/operacao-mira-quadrilha-de-trafico-de-drogas-sinteticas-instalada-no-litoral-norte-de-sc.ghtml>> Acesso em: 20 de set. de 2023

CHENG, J. Y. K. et al. **Impurity profiling of ecstasy tablets seized in Hong Kong by gas chromatography-mass spectrometry**. Forensic Science International, v. 162, n. 1–3, p. 87–94, 16 out. 2006.

CHOE, S. et al. **Analysis of pharmaceutical impurities in the methamphetamine crystals seized for drug trafficking in Korea**. Forensic Science International. Vol. 227, p. 58-51, 2013.

COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 452p.

COOPER, K. **Impurity Analysis of MDA Synthesized from Unrestricted Compounds**. Dissertação. Master of Science. University of Technology Sydney 2019.

COOPMAN, V. et al. **High-resolution quadrupole time-of-flight mass spectrometry, a powerful technique to include in analytical scheme for the identification of drugs and chemicals in seizures: A case study**. Toxicologie Analytique et Clinique, v. 34, n. 3, 2022.

CORMICK, J. et al. **The synthesis of MDA from helional and characterisation by isotope ratio mass spectrometry**. Forensic Chemistry, v. 30, p. 100433, 2022.

COURI, D. MILKS, M. **Toxicity and metabolism of the neurotoxic hexacarbons n-hexane, 2-hexanone, and 2,5-hexanedione**. Rev. Pharmacol. Toxicol, 1982.

CREMASCO, M. A.; BRAGA, N. DE P. **Synthesis of piperonal from essential oil of long-pepper (Piper hispidinervium C. DC.)**. Acta Amazonica, v. 42, n. 2, p. 275–278, 2012.

DAVIES, N., ENGLISH, W., & GRUNDLINGH, J. **MDMA toxicity: management of acute and life-threatening presentations**. *British Journal of Nursing*, 27(11), 616–622, 2018.

DEA (Drug Enforcement Administration). **National Drug Threat Assessment 2020**. Março, 2021.

DE LA FUENTE, D. et al. Stability of seized amphetamine during 32 months of storage. **Forensic Science International: Reports**, v. 2, n. April, p. 100095, 2020.

DUNLAP, L. E.; ANDREWS, A. M.; OLSON, D. E. **Dark Classics in Chemical Neuroscience: 3,4-Methylenedioxymethamphetamine**. *ACS Chemical Neuroscience*, v. 9, n. 10, p. 2408–2427, 2018

FALAKI, F. **Sample Preparation Techniques for Gas Chromatography**. In: **Gas Chromatography - Derivatization, Sample Preparation, Application**. [s.l.] IntechOpen, 2019.

FEENEY, W.; MOORTHY, A. S.; SISCO, E. **Spectral trends in GC-EI-MS data obtained from the SWGDRUG mass spectral library and literature: A resource for the identification of unknown compounds**. *Forensic Chemistry*, v. 31, 1 dez. 2022.

GALLAGHER, R.; SHIMMON, R.; MCDONAGH, A. M. **Synthesis and impurity profiling of MDMA prepared from commonly available starting materials**. *Forensic Science International*, 223(1-3), 306–313, 2012.

GIEBINK, P. J.; SMITH, R. W. **Development of Microwave-Assisted Extraction Procedure for Organic Impurity Profiling of Seized 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA)**. *Journal of Forensic Sciences*, v. 56, n. 6, p. 1483–1492, nov. 2011.

GIMENO, P. et al. **A contribution to the chemical profiling of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) tablets**. [s.l.: s.n.].

HALL, A. P.; HENRY, J. A. **Acute toxic effects of “Ecstasy” (MDMA) and related compounds: overview of pathophysiology and clinical management**. *British Journal of Anaesthesia*, 96(6), 678–685, 2006.

HEATHER, E.; SHIMMON, R.; MCDONAGH, A. M. **Organic impurity profiling of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) synthesised from catechol**. *Forensic Science International*, 248, 140–147, 2015.

HONORIO, J. C. et al. **Legal highs: um problema de saúde pública**. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 30, n. 2, p. 228–230, Feb, 2014

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Mapa escolar de Santa Catarina**. Santa Catarina. IBGE, 2010.

JALALI, A. et al. **Impact of Pharmaceutical Impurities in Ecstasy Tablets: Gas Chromatography-Mass Spectrometry Study**. Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services Iranian Journal of Pharmaceutical Research, v. 15, 2016.

JONES, A. L. **Legal “highs” available through the internet-implications and solution?** Q J Med; 103:535-6, 2010.

KALANT, H. **The pharmacology and toxicology of “ecstasy” (MDMA) and related drugs**. CMAJ;165(7):917-928, 2001.

KHAJEAMIRI, A. R. et al. **Profiling of Ecstasy Tablets Seized in Iran**. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 10 (2): 211-220, 2011.

KUWAYAMA, K. et al. **Identification of impurities and the statistical classification of methamphetamine using headspace solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry**. Forensic Science International, v. 160, n. 1, p. 44–52, 27 jun. 2006.

LAPACHINSKE, S. F. **Quantificação de MDMA em amostras de Ecstasy por cromatografia em fase gasosa (GC/NPD)**. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2004

LARANJEIRAS, R.; DUNN, J.; RASSI, R.; FERNANDES, M. **Êxtase (3,4-metilenodioximetanfetamina, MDMA): uma droga velha e um problema novo?** ABP-APAL.;18(3):77-81, 1996.

LUETHI, D.; LIECHTI, M. E. **Designer drugs: mechanism of action and adverse effects**. Archives of Toxicology. 2020.

MAKINO, Y. et al. **Profiling of Illegal Amphetamine-type Stimulant Tablets in Japan**. Journal of Health Science, v. 49, 2003.

MCMANAMAN, K. M.; SMITH, R. W. **Effect of Extraction Procedure and Gas Chromatography Temperature Program on Discrimination of MDMA Exhibits**. Journal of Forensic Sciences, v. 59, n. 2, p. 327–336, mar. 2014.

MCNAIR, H. et al. **Basic Gas Chromatography**. 3rd ed. Wiley, 2019. Web. 14 Oct. 2022.

MENG, L. et al. **Comparison of hollow fiber liquid-phase microextraction and ultrasound-assisted low-density solvent dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of drugs of abuse in biological samples by gas chromatography-mass spectrometry**. Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, v. 989, p. 46–53, 1 maio 2015.

MILLIET, Q.; WEYERMANN, C.; ESSEIVA, P. **The profiling of MDMA tablets: a study of the combination of physical characteristics and organic impurities as sources of information.** *Forensic Sci Int.*; 30;187(1-3):58-65, May. 2009.

MITREVSKI, B. et al. **Chemical signature of Ecstasy volatiles by comprehensive two dimensional gas chromatography.** *Forensic Science International*, v. 209, p. 11–20, 2011.

MORAES, B. **Perfilamento de impurezas em amostras de ecstasy apreendidas em minas gerais utilizando microextração em fase sólida e análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.** Tese (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, p. 129. 2022.

MOREIRA, R. V. et al. **Accessing the chemical profile of Ecstasy tablets seized in São Paulo (Brazil) by FT-Raman Spectroscopy.** *Vibrational Spectroscopy*, v. 87, p. 104–110, 2016.

MORO, E. T.; FERRAZ, A. A. F.; MÓDOLO, N. S. P. **Anestesia e o usuário de Ecstasy.** *Rev Bras de Anestesiol.*;56(2):183-8, 2006.

NICHOLS, D. E. **Differences between the mechanism of action of MDMA, MBDB, and the classic hallucinogens. identification of a new therapeutic class: Entactogens.** *Journal of Psychoactive Drugs*, v. 18, n. 4, p. 305–313, 1986.

PACHECO, J. **Mega operação apreende 22 mil comprimidos de ecstasy e pacotes de 'supermaconha' em Camboriú.** G1 [Online] 18 fev. 2023. Disponível em: < <https://g1.globo.com/sc/santa-catarina/noticia/2023/02/18/mega-operacao-apreende-22-mil-comprimidos-de-ecstasy-e-pacotes-de-supermaconha-em-camboriu.ghtml>> Acesso em: 10 de ago. de 2023

PALHOL, F. et al. **Impurity profiling of seized MDMA tablets by capillary gas chromatography.** *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 374, n. 2, p. 274–281, 2002.

PAPASEIT, E.; PÉREZ-MAÑÁ, C.; TORRENS, M.; FARRÉ, A.; POYATOS, L.; HLADUN, O.; SANVISENS, A.; MUGA, R.; FARRÉ, M. **MDMA interactions with pharmaceuticals and drugs of abuse.** *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2020.

PETERS, F. T; MARTINEZ-RAMIREZ, J. **Analytical toxicology of emerging drugs of abuse - An update.** *Therapeutic Drug Monitoring*, v. 32, n. 5, p. 535–539, 2010.

PHONCHAI, A. **Determination of MDMA, MDA and MA in Ecstasy Tablets and Urine Samples of Suspects Seized in Songkhla Province Using GC-FID Technique.** Dissertação. Master of Science in Forensic Science. Prince of Songkla University, 2009.

PINTO, J. R. M.; RIBEIRO, M. G. T. C.; MACHADO, A. A. S. C. **The solvent challenge in synthesis – the workup as example**. *Quimica Nova*, v. 42, n. 8, p. 971–982, 2019.

PLUMMER, C. M. et al. **The synthesis and characterisation of MDMA derived from a catalytic oxidation of material isolated from black pepper reveals potential route specific impurities**. *Science and Justice*, v. 56, n. 3, p. 223–230, 1 maio 2016.

POURMAND, A.; MAZER-AMIRSHAHI, M.; CHISTOV, S.; LI, A.; PARK, M. **Designer drugs: Review and implications for emergency management**. *Human & Experimental Toxicology*, 37(1), 94–101, 2017.

REITZEL, L. A. et al. **A case story, involving the use of maltitol, a sugar alcohol, as a cutting agent in amphetamine and cocaine powders**. *Scandinavian Journal of Forensic Science*. Vol. 22, No. 1, p. 6-10, 2016.

ROMÃO, W. et al. **Química forense: Perspectivas sobre novos métodos analíticos aplicados à documentoscopia, balística e drogas de abuso**. *Quimica Nova*, v. 34, n. 10, p. 1717–1728, 2011.

ROTHMAN, R. B.; BAUMANN, M. H. **Serotonergic drugs and valvular heart disease**. *Expert Opinion on Drug Safety*, maio 2009.

SANTA CATARINA. **Balanco Geral de 2019**. Diretoria de contabilidade e de informações fiscais. Volume 1, 2019.

SCHLOSSER, P. M. et al. **Human health effects of dichloromethane: Key findings and scientific issues**. *Environmental Health Perspectives*, v. 123, n. 2, p. 114–119, 2015.

SCIENTIFIC WORKING GROUP FOR FORENSIC TOXICOLOGY (SWGTOX). **Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology**. *Journal of Analytical Toxicology*, 37 (7), p. 452–474, Sep. 2013.

SILVA, N. P. D. A. **Caracterização química de drogas sintéticas apreendidas em Minas Gerais**. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2018.

SOUZA, D. O. **Polícia Militar apreende mais de 13 mil comprimidos de ecstasy na Capital**. SC.GOV.BR [Online] 28 abr. 2023. Disponível em: <<https://estado.sc.gov.br/noticias/policia-militar-apreende-mais-de-13-mil-comprimidos-de-ecstasy-na-capital/>> Acesso em: 10 ago. de 2023.

ŚWIST, M.; WILAMOWSKI, J.; PARCZEWSKI, A. **Determination of synthesis method of ecstasy based on the basic impurities**. *Forensic Science International*, v. 152, n. 2–3, p. 175–184, 10 jun. 2005a.

ŚWIST, M.; WILAMOWSKI, J.; PARCZEWSKI, A. **Basic and neutral route specific impurities in MDMA prepared by different synthesis methods: Comparison of impurity profiles.** Forensic Science International, v. 155, n. 2–3, p. 100–111, 20 dez. 2005b.

TAFFE, M. A.; OLIVE, M. F. **Designer drugs – A continuing chemical (R)evolution.** Neuropharmacology, 134, 1–3, 2018.

TENG, S. F. et al. **Characteristics and trends of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) tablets found in Taiwan from 2002 to February 2005.** Forensic Science International, v. 161, n. 2–3, p. 202–208, 12 set. 2006.

TOGNI, L. R. et al. **The Variability of Ecstasy Tablets Composition in Brazil.** Journal of Forensic Sciences, v. 60, n. 1, p. 147–151, 1 jan. 2015.

TSHALA-KATUMBAY, D. et al. **Probing mechanisms of axonopathy. Part II: Protein targets of 2,5-Hexanedione, the neurotoxic metabolite of the aliphatic solvent n-Hexane.** Toxicological Sciences, v. 107, n. 2, p. 482–489, 2009.

UNODC. **Recommended methods for the identifications and analysis of amphetamine, methamphetamine and their ring-substituted analogues in seized materials.** 2018.

UNODC. **Global ATS Assessment: Amphetamines and Ecstasy.** United Nations Office on Drugs and Crime Vienna, 2011.

UNODC. **World Drug Report 2020.** United Nations Office on Drugs and Crime Vienna, 2020a.

UNODC. **Global synthetic drugs assessment 2020.** United Nations Office on Drugs and Crime Vienna, 2020b.

UNODC. **Agosto de 2020 - Brasil: Surgimento da fabricação de “êxtase” em laboratórios clandestinos.** 2020c. Disponível em: <<https://www.unodc.org/LSS/Announcement/Details/e7c21143-eb4d-47e6-9a70-723eb6e47c29>> Acesso em 10 set 2023

UNODC. **Ecstasy: get the facts.** Disponível em : <<https://www.unodc.org/drugs/en/get-the-facts/ecstasy.html>> Acesso em: 10 set. 2023.

VAN DEURSEN, M. M.; LOCK, E. R. A.; POORTMAN-VAN DER MEER, A. J. **Organic impurity profiling of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) tablets seized in the Netherlands.** Science and Justice - Journal of the Forensic Science Society, v. 46, n. 3, p. 135–152, 2006.

VARGAS, R. M. **A criminalística do século XXI e a análise de drogas e inteligência.** Brasília, Academia Nacional de Polícia, 2012.

WELTON, T. **Solvents and sustainable chemistry** *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering.* SciencesRoyal Society of London. 8 nov. 2015.

WOOD, D. M. et al. **Variability in the 3,4-methylenedioxymethamphetamine content of “ecstasy” tablets in the UK.** *Emergency Medicine Journal*, v. 28, n. 9, p. 764–765, set. 2011.

XAVIER, C. A. C. et al. **Êxtase (MDMA): efeitos farmacológicos e tóxicos, mecanismo de ação e abordagem clínica.** *Archives of Clinical Psychiatry*, São Paulo, v. 35, n. 3, 2008.

APÊNDICE A – POP DE IDENTIFICAÇÃO DE ECSTASY

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP			
CÓDIGO: XX- POP-XX	Data de emissão: 13/06/2023	Data de vigência: 10/07/2023	Próxima revisão: DEZ/2024	Versão nº 002
ÁREA EMITENTE: QUÍMICA FORENSE				
ASSUNTO: IDENTIFICAÇÃO DE COMPRIMIDOS DO TIPO ECSTASY				

OBJETIVO

O objetivo deste procedimento é identificar substâncias ativas e possíveis precursores nas amostras de comprimidos do tipo *ecstasy* apreendidas utilizando cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa. A cromatografia gasosa é um método que permite a separação dos analitos de uma amostra através de sua interação entre a fase móvel (gás) e uma fase estacionária (sólida ou líquida).

APLICAÇÃO

Este POP aplica-se ao setor de Química Forense da Polícia Científica de Joinville.


RESPONSÁVEL

Perito Criminal Bioquímico
Auxiliar de Laboratório

MATERIAIS

Câmera;	Balança analítica;
Régua;	Centrífuga;
Grau;	Acetato de etila;
Pistilo;	Tampão pH 12.5;
Eppendorf;	Pipeta automática;
Tubo falcon;	Ponteira;
Vial;	Béquer de descarte;

Cromatógrafo gasoso acoplado ao
Espectrômetro de massas.

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP			
	CÓDIGO: XX-POP-XX	Data de emissão: 13/06/2023	Data de vigência: 10/07/2023	Próxima revisão: DEZ/2024
ÁREA EMITENTE: QUÍMICA FORENSE				
ASSUNTO: IDENTIFICAÇÃO DE ECSTASY				

PREPARO DA SOLUÇÃO TAMPÃO pH 12.5

Para o preparo da solução de volume total 100mL:


- 1) Pesar 0,8 g de Bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e 1,0 g de carbonato de sódio (Na_2CO_3) em balança analítica;
- 2) Em um béquer colocar um pouco de água destilada suficiente para solubilizar ambas substâncias pesadas;
- 3) Agitar até completa dissolução dos sais em água;
- 4) Transferir para um balão volumétrico e completar com água destilada;
- 5) Conferir o pH da solução com o pHmetro e ajustar o pH conforme necessário;
- 6) Acondicionar a solução em frasco devidamente identificado e armazenado em geladeira para conservação.

PROCEDIMENTOS

- 1) Fotografar os comprimidos da amostra com a régua posicionada;
- 2) Com o grau e o pistilo macerar o comprimido a ser analisado;
- 3) Pesar 50 mg da amostra em tubo falcon;
- 4) Com a pipeta automática, adicionar 1000 μL de tampão pH 12.5;
- 5) Descartar ponteira;
- 6) Agitar a amostra em vórtex durante 1 minuto;
- 7) Com a pipeta automática, adicionar 1000 μL de acetato de etila;
- 8) Agitar a amostra em vórtex durante 1 minuto;
- 9) Centrifugar a amostra durante 4 minutos a 4000 rpm;

10) Com a pipeta automática retirar o sobrenadante da amostra centrifugada e adicionar no 600 μ L *vial*;

11) Descartar ponteira;

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP			
	CÓDIGO: XX-POP-XX	Data de emissão: 13/06/2023	Data de vigência: 10/07/2023	Próxima revisão: DEZ/2024
ÁREA EMITENTE: QUÍMICA FORENSE				
ASSUNTO: IDENTIFICAÇÃO DE ECSTASY				

12) Tampar o *vial*;

13) Posicionar o *vial* no cromatógrafo gasoso e iniciar a análise;

CONFIGURAÇÃO DO CROMATÓGRAFO GASOSO

Volume de injeção: 1 μ L da amostra

SPLITLESS

Temperatura da injeção: 290°C

Fluxo de gás Hélio (He): 1 mL/min


Solvent delay: 2,7min

Rampa: 50°C por 2 min, seguido de 10°C/min até 290°C, mantém 290°C por 4 min.

Tempo total da corrida: 38 min

Tempo de retenção (TR)	Íons monitorados			Sugestivo de:
	58	91	65	
9.5	58	91	65	MA/ Pseudoefedrina
13.3	44	135	77	MDA
14.1	58	77	135	MMDPPA
15.2	135	77	51	(2R)-3-(1,3-Benzodioxole-5-yl)-2-metilpropan-1-ol

17.6	194	109	67	Cafeína
18.2	135	77	207	N-acetil-3,4-metilenodioxianfetamina
24.2	163	135	204	3,4-metilenodioxifenil-2-propanona

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP			
CÓDIGO: XX-POP-XX	Data de emissão: 13/06/2023	Data de vigência: 10/07/2023	Próxima revisão: DEZ/2024	Versão nº 002
ÁREA EMITENTE: QUÍMICA FORENSE				
ASSUNTO: IDENTIFICAÇÃO DE ECSTASY				

Estabilidade do comprimido após ser triturado: 15 dias.

EMISSÃO, REVISÃO E APROVAÇÃO.

Emitido por: Julia Carolina Soares

Revisado por:

Aprovado por:

Data da Aprovação: