



**UnB**

Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE NOVAS SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS  
POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

JULIA NEVES PRATES SERRANO

Orientador:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> ALINE LIMA DE OLIVEIRA PATERNO

Brasília, DF

2019

JULIA NEVES PRATES SERRANO

CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE NOVAS SUBSTÂNCIAS  
PSICOATIVAS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Dissertação apresentada à Universidade de Brasília, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, para obtenção do título de Mestre. Orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Aline Lima de Oliveira Paterno

BRASÍLIA – DF

2019

### 1.1.1 FOLHA DE APROVAÇÃO

Comunicamos a aprovação da Defesa de Dissertação do (a) aluno (a) **Julia Neves Prates Serrano**, matrícula nº **17/0089045**, intitulada ***“Caracterização e quantificação de novas substâncias psicoativas por ressonância magnética nuclear”***, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 20 de fevereiro de 2019.

Prof.<sup>a</sup> Dra. Aline Lima de Oliveira Paterno  
Presidente de Banca

Prof. Dr. Angelo Henrique de Lira Machado  
Membro Titular

Prof. Dr. Rafael Oliveira Rocha  
Membro Titular IQ/UnB

Prof. Dr. Jez Willian Batista Braga  
Membro Suplente

Em 20 de fevereiro de 2019.

**Dedico esse trabalho à minha família que nunca duvidou de mim e sempre esteve comigo.**

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Aline Lima de Oliveira Paterno, por ter me recebido como aluna, por ter me apoiado e por ter acreditado em mim e no trabalho.

Aos professores que participaram da banca de qualificação e defesa, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Cristi Dias, Prof. Dr. Ângelo Machado, Prof. Dr. Rafael Rocha e Prof. Dr. Jez William Batista, por toda contribuição e conselhos para melhorar o trabalho.

Aos peritos da Polícia Federal, em especial ao Adriano Maldaner e Monica Paulo, pelo auxílio e conselhos essenciais para o andamento da pesquisa.

À minha família que viu o meu esforço e dedicação para com esse trabalho e que sempre me apoiou com muito amor.

Ao doutor Luiz Eduardo, por toda ajuda, conselho, paciência e direcionamento durante a pesquisa.

Aos colegas e professores dos laboratórios Lapsca-Laqmos e Litmo, pelo companheirismo e amizade.

Aos meus amigos pela amizade e apoio.

À Universidade de Brasília (UnB), FINEP e ao Instituto de Química pelos recursos fornecidos, equipamentos e materiais.

Instituto de criminalística Nacional (INC/PF) pela oportunidade da pesquisa, pelas amostras fornecidas, pelo laboratório para o preparo das amostras e por todo o apoio.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	1
1.1	Ressonância Magnética Nuclear.....	1
1.2	Quantificação por RMN .....	7
1.3	Validação de método .....	11
1.4	Novas Substâncias Psicoativas (NSP).....	16
1.5	A UNODC e o Programa de exercício colaborativo internacional (ICE – <i>International Collaborative Exercise</i> ).....	18
2	OBJETIVOS.....	21
3	MATERIAS E MÉTODOS .....	22
3.1	Análise por RMN .....	22
3.1.1	Preparo de amostra.....	22
3.1.2	Preparo das amostras de controle .....	24
3.1.3	Parâmetros de aquisição .....	24
3.2	Análise por Difração de Raio-X.....	26
3.3	Processamento dos dados .....	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	27
4.1.	Quantificação das amostras dos exercícios da UNODC por RMN de <sup>1</sup> H.....	27
4.2.	Quantificação de NSP por RMN de <sup>1</sup> H .....	34
4.3	Incerteza do método.....	39
4.4	Caracterização e identificação de sinais das amostras de NSP .....	43
4.4.1	Triptaminas .....	43
4.4.2	Catinonas sintéticas .....	47
4.4.3	Fenetilaminas .....	55
5	CONCLUSÃO.....	63

6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA .....	65
7	ANEXO A .....	69
8	ANEXO B.....	71
9	ANEXO C.....	73
10	ANEXO D .....	75
11	ANEXO E.....	77
12	ANEXO F.....	79
13	ANEXO G .....	83
14	ANEXO H .....	89
15	ANEXO I.....	104

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

$\mu$	Incerteza padrão combinada
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AM	cido maleico
AQ	Tempo de aquisição
BBFO	Broadband observe
CV	Coefficiente de variação
D1	Delay de relaxação
DMS	Dimetilsulfona
DS	Dummy scans
ER	Erro relativo
FID	Free induction decay
FTIR-ATR	Attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy
INC	Instituto Nacional de Criminalística
IQ	Instituto de Química
ISO/IEC	International Organization of Standardization em conjunto com a International Electrotechnical Commission
k95%	Fator de abrangência
LQ	Limite de quantificação
M	Massa molecular
MRC	Material de referência certificado
NOE	Efeito Nuclear Overhauser ( <i>Nuclear Overhauser effect</i> )
NS	Número de scans
PF	Polícia Federal
PI	Padrão interno
POP	Procedimento operacional padrão
RG	Ganho do detector



RMN	Ressonância magnética nuclear
s	Desvio padrão
SEPLAB	Serviço de Perícias de Laboratório e Balística
T1	Tempo de relaxação longitudinal
TD	Número de pontos – FID
T	Temperatura
TMS	Tetrametilsilano
TSP-d4	3-trimetilsilil-propionato-d4 de sódio
u amostra	Incerteza padrão
U amostra	Incerteza expandida

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Esquema do equipamento RMN com identificação dos principais componentes. ....	2
<b>Figura 2</b> Decaimento de um FID. Imagem baseada no livro de Claridge, 2009 <sup>4</sup> .....	3
<b>Figura 3.</b> Esquema de detecção e transmissão do sinal de RMN até o computador, onde o espectro é gerado. Imagem baseada no livro de Claridge, 2009 <sup>4</sup> .....	4
<b>Figura 4</b> Diagrama de energia dos spins com a campo magnético igual a zero e diferente de zero.....	5
<b>Figura 5</b> Gráfico referente ao teste de linearidade adaptado do artigo de Huber, L. <sup>14</sup> .....	13
<b>Figura 6</b> Relação Sinal/Ruido para limite de detecção e quantificação por RMN. Figura adaptada do artigo de Huber L, 2010 <sup>14</sup> .....	15
<b>Figura 7</b> Estrutura das classes mais comumente encontradas das NSP. ....	18
<b>Figura 8.</b> Estruturas moleculares das amostras referentes aos exercícios da UNODOC. A letra Q indica os <sup>1</sup> H cujos sinais foram selecionados para realizar a quantificação. ....	28
<b>Figura 9</b> Relação de amostras analisadas de acordo com as classificações das NSP apreendidas (Fenetilaminas, Triptaminas e Catinonas sintéticas). ....	35
<b>Figura 10</b> Diagrama de Ishikawa fundamentado na equação 6 para determinar as fontes de incertezas.....	39
<b>Figura 11.</b> Estrutura molecular e espectro de RMN de <sup>1</sup> H (600 MHz) do composto 4-HO-MiPT em metanol-d <sub>4</sub> (MeOD) e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.....	44
<b>Figura 12 -</b> Estrutura molecular e espectro de RMN de <sup>1</sup> H (600 MHz) do composto 5-MeO-MiPT em D <sub>2</sub> O e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	46
<b>Figura 13</b> Espectros de <sup>1</sup> H RMN referente a amostra 5-MeO-MiPT e Etilona, confirmando a ausência da substância Etilona .....	47
<b>Figura 14.</b> Estruturas moleculares dos polimorfos A e B da Etilona <sup>28</sup> .....	48
<b>Figura 15.</b> Estruturas cristalinas dos polimorfos 1A e 1B da etilona adaptadas de Maheux, C.R, et Al <sup>28</sup> . ....	48
<b>Figura 16</b> Estrutura molecular e espectro de RMN de <sup>1</sup> H (600 MHz) do composto Etilona em D <sub>2</sub> O e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.....	49
<b>Figura 17</b> Amostra de Etilona apreendida pela Policia Federal e analisada nesse trabalho.....	50

<b>Figura 18</b> Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ no estado sólido usando a técnica de rotação no ângulo mágico dos polimorfos de etilona 1A e 1B. Os asteriscos identificam sinais de impurezas. Figura adaptada do artigo de Maheux et. Al <sup>28</sup> .....	51
<b>Figura 19</b> - Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ no estado sólido usando a técnica de rotação no ângulo mágico da amostra de etilona apreendida pela PF. As setas indicam as impurezas das amostras. O sinal circulado confirma a presença do polimorfo 1B.....	51
<b>Figura 20</b> Difratoogramas dos polimorfos 1A e 1B simulados e medidos. Figura adaptada de Maheux, C. R. et al <sup>28</sup> .....	52
<b>Figura 21</b> Difratoograma da amostra Etilona realizada na CAIQ - IQ UnB.....	52
<b>Figura 22</b> - Estruturas moleculares das substâncias 4-CMC e 4-FMC, respectivamente, com identificação dos hidrogênios quantificados .....	53
<b>Figura 23</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 4-CMC em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.....	54
<b>Figura 24</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 4-FMC em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.....	54
<b>Figura 25</b> - Estruturas moleculares das substâncias 2-FA e 4-FA, respectivamente.....	56
<b>Figura 26</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 2-FA em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.....	56
<b>Figura 27</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 4-FA em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.....	57
<b>Figura 28</b> - Estrutura molecular das substâncias 2-MAPB e 5-MAPB, respectivamente .....	58
<b>Figura 29</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 2-MAPB em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	59
<b>Figura 30</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 5-MAPB em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.B .....	59
<b>Figura 31</b> - Estruturas moleculares das substâncias DOC (a), 25B-NBOMe (b) e Etilfenidato (c). As letras em maiúsculo indicam os hidrogênios usados para quantificação.....	60
<b>Figura 32</b> Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto DOC em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.....	60

<b>Figura 33</b> Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 25B-NBOMe em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	61
<b>Figura 34</b> Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto Etilfenidato em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	61
<b>Figura 35.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra Nimetazepam (código SM2) do exercício 2/2015 da UNODC em solvente HOD à $25^\circ\text{C}$ . A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito. ....	69
<b>Figura 36</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra Cetamina (código SM3) do exercício 2/2015 da UNODC em solvente HOD à $25^\circ\text{C}$ . A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito .....	70
<b>Figura 37</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra Anfetamina (código SM4) do exercício 2/2015 da UNODC em solvente HOD à $25^\circ\text{C}$ . A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito .....	70
<b>Figura 38</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra Cocaína (código SM1) do exercício 1/2016 da UNODC em solvente HOD à $25^\circ\text{C}$ . A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito.....	71
<b>Figura 39</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra MDMA (código SM2) do exercício 1/2016 da UNODC em solvente HOD à $25^\circ\text{C}$ . A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito.....	71
<b>Figura 40</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra Anfetamina (código SM3) do exercício 1/2016 da UNODC em solvente HOD à $25^\circ\text{C}$ . A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito .....	72
<b>Figura 41</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra Cocaína (código SM1) do exercício 2/2016 da UNODC em solvente HOD à $25^\circ\text{C}$ . A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito.....	73
<b>Figura 42</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra JWH-073 (código SM2) do exercício 2/2016 da UNODC em solvente $\text{CDCl}_3$ à $25^\circ\text{C}$ . A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito .....	73
<b>Figura 43</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra Cetamina (código SM3) do exercício 2/2016 da UNODC em solvente HOD à $25^\circ\text{C}$ . A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito .....	74

<b>Figura 44</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra Heroína (código SM4) do exercício 2/2016 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito.....	74
<b>Figura 45</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra MDPV (código SM1) do exercício 1/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito.....	75
<b>Figura 46</b> - E Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra Cocaína (código SM2) do exercício 1/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito .....	76
<b>Figura 47</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra MDMA (código SM3) do exercício 1/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito.....	76
<b>Figura 48</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra MDPV (código SM1) do exercício 2/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito.....	77
<b>Figura 49</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra Anfetamina (código SM2) do exercício 2/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito .....	78
<b>Figura 50</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) da amostra Metanfetamina (código SM3) do exercício 2/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito .....	78
<b>Figura 51</b> Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 5-MeO-MiPT em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	79
<b>Figura 52</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto 5-MeO-MiPT em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.....	80
<b>Figura 53</b> Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 4-HO-MiPT em MeOD e sem adição de padrão interno, adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.....	81
<b>Figura 54</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto 4-HO-MiPT em MeOD e sem adição de padrão interno, adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	82

<b>Figura 55</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 4-CMC em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.....	83
<b>Figura 56</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto 4-CMC em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.....	84
<b>Figura 57</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 4-FMC em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM), adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.....	85
<b>Figura 58</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto 4-FMC em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.....	86
<b>Figura 59</b> Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto Etilona em $\text{D}_2\text{O}$ e sem adição de padrão interno (AM), adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.....	87
<b>Figura 60</b> Estrutura molecular e espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto Etilona em $\text{D}_2\text{O}$ e sem adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.....	88
<b>Figura 61.</b> Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 2-FA em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.....	89
<b>Figura 62.</b> Estrutura molecular e espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto 2-FA em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.....	90
<b>Figura 63</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 4-FA em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.....	91
<b>Figura 64</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto 4-FA em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.....	92
<b>Figura 65</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 2-MAPB em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	93
<b>Figura 66</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de HSQC editado $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto 2-MAPB em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.....	94

<b>Figura 67</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 5-MAPB em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	95
<b>Figura 68</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto 5-MAPB em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	96
<b>Figura 69</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto DOC em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	97
<b>Figura 70</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de HSQC editado $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto DOC em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	98
<b>Figura 71</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto Etilfenidato em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	99
<b>Figura 72</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto Etilfenidato em $\text{D}_2\text{O}$ e com adição de padrão interno (AM) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	100
<b>Figura 73</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 25N-NBOMe em $\text{CDCl}_3$ e com adição de padrão interno (DMS) adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	101
<b>Figura 74</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 25B-NBOMe em $\text{CDCl}_3$ e sem adição de padrão interno adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	102
<b>Figura 75</b> - Estrutura molecular e espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (600 MHz) do composto 25B-NBOMe em $\text{CDCl}_3$ e sem adição de padrão interno, adquirido à $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais. ....	102
<b>Figura 76</b> Estudo de seletividade do método para a substância 2-FA. Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 2FA e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à $25^\circ\text{C}$ . A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto. ....	104
<b>Figura 77</b> Estudo de seletividade do método para a substância 2-MAPB. Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 2-MAPB e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à $25^\circ\text{C}$ . A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto. ....	105

<b>Figura 78</b> Estudo de seletividade do método para a substância 4-CMC. Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 4-CMC e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto .....	106
<b>Figura 79</b> Estudo de seletividade do método para a substância 4-FA. Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 4-FA e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto....	107
<b>Figura 80</b> Estudo de seletividade do método para a substância 4-HO-MiPT. Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 4-HO-MiPT e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto .....	109
<b>Figura 81</b> Estudo de seletividade do método para a substância 5-MAPB. Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 5-MAPB e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto .....	110
<b>Figura 82</b> Estudo de seletividade do método para a substância 5-MeO-MiPT. Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto 5-MeO-MiPT e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto .....	111
<b>Figura 83</b> Estudo de seletividade do método para a substância DOC. Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto DOC e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto....	112
<b>Figura 84</b> Estudo de seletividade do método para a substância Etilfenidato. Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto Etilfenidato e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto .....	113
<b>Figura 85</b> Estudo de seletividade do método para a substância Etilona. Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) do composto Etilona e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto .....	114



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Relação do uso das figuras de mérito com o tipo de análise a ser desenvolvida. Adaptado do artigo In-House Method Validation - A guide for Chemical Laboratories LGC / VAM, 2003 <sup>12</sup> .....	16
<b>Tabela 2</b> Parâmetros que são ajustados e utilizados a cada ensaio de <sup>1</sup> H RMN.....	25
<b>Tabela 3</b> Parâmetros que são ajustados e utilizados no ensaio de <sup>13</sup> C MAS RMN. ....	25
<b>Tabela 4</b> Tabela de atribuição dos sinais quantificados. ....	29
<b>Tabela 5</b> Purezas amostras da UNODC obtidas pelas análises de RMNq de <sup>1</sup> H. ....	30
<b>Tabela 6</b> Valores de pureza experimental comparados às purezas determinadas pela UNODC e seus respectivos erros relativos em porcentagem. ....	31
<b>Tabela 7</b> Dados utilizados no cálculo do teste t pareado.....	32
<b>Tabela 8</b> Valores obtidos para os limites de detecção e quantificação para as amostras do programa ICE – UNODC. ....	33
<b>Tabela 9</b> Valores de purezas das NPS, coeficientes de variação, massa média utilizada e sinais utilizados na quantificação. ....	36
<b>Tabela 10</b> Tabela de estabilidade com valores de pureza calculado no período de 48 horas e respectivos desvios padrão.....	37
<b>Tabela 11</b> Valores dos limites de detecção e quantificação para as amostras de NSP. ....	38
<b>Tabela 12</b> Valores de pureza de cada amostra controle para o DMS, pureza média, desvio padrão e coeficiente de variação. ....	40
<b>Tabela 13</b> Valores de pureza de cada amostra controle para o DMS, pureza média, desvio padrão e coeficiente de variação após teste Q. ....	40
<b>Tabela 14</b> Tabela de incertezas de cada fator e suas respectivas contribuições para a incerteza da medida. ....	41
<b>Tabela 15</b> Incertezas e siglas utilizadas para os termos contidos na Equação 8.....	41
<b>Tabela 16</b> Valores de incerteza padrão combinada, pureza e fator de abrangência par ao cálculo da incerteza expandida do método. ....	42
<b>Tabela 17</b> Valores de pureza da amostra 4-HO-MiPT durante o teste de estabilidade em um intervalo de 0, 24, 48 e 72 horas. ....	45
<b>Tabela 18</b> Tabela de atribuição dos sinais da substância 5-MeO-MiPT .....	80
<b>Tabela 19</b> - Tabela de atribuição de sinais da substância 4-HO-MiPT .....	82
<b>Tabela 20</b> - Tabela de atribuição dos sinais da substância 4-CMC .....	84

<b>Tabela 21</b> - Tabela de atribuição dos sinais da substância 4-FMC .....	86
<b>Tabela 22</b> Tabela de atribuição dos sinais da substância Etilona .....	88
<b>Tabela 23.</b> Atribuição de sinais da substância 2-FA em HOD à 25°C.....	90
<b>Tabela 24</b> - Tabela de atribuição de sinais da substância 4-FA.....	92
<b>Tabela 25</b> - Tabela de atribuição dos sinais da substância 2-MAPB.....	94
<b>Tabela 26</b> - Tabela de atribuição dos sinais da substância 5-MAPB.....	96
<b>Tabela 27</b> - Tabela de atribuição de sinais da substância DOC.....	98
<b>Tabela 28</b> - Tabela de atribuição de sinais da substância Etilfenidato .....	100
<b>Tabela 29</b> - Tabela de atribuição dos sinais da substância 25B-NBOMe .....	103

## RESUMO

Novas substâncias psicoativas (NSP) são drogas que surgiram recentemente no mercado ilegal como alternativas às drogas comuns de abuso. O fenômeno global das NSP leva a um grande esforço dos serviços de inteligência e órgãos de saúde pública para adotar formas de controle dessa substância. No entanto, desafios analíticos significativos estão associados a essa atividade ilegal, incluindo a dificuldade de obter material de referência para identificar, caracterizar e quantificar o grande número de NSP diferentes. Nesse sentido, existem muitas vantagens inerentes ao uso da técnica de RMNq, tais como preparação mínima da amostra, não destruição da amostra, configuração experimental simples. Mas a vantagem mais interessante, especialmente no caso da análise forense, é o fato de que não é necessário usar um padrão de referência para realizar medidas quantitativas. Nesse sentido, o presente trabalho avaliou o uso do RMN de  $^1\text{H}$  como método de análise quantitativa de amostras forenses. Para isso, foram caracterizadas amostras fornecidas pelo programa de exercícios do UNODC (Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime) e amostras de NSP apreendidas pela Polícia Federal brasileira e a quantificação foi realizada utilizando a técnica de  $^1\text{H}$ -qNMR com a adição de um padrão interno. Os resultados para as amostras do UNODC foram excelentes, com coeficientes de variação (CV%) abaixo de 2% e erros relativos abaixo de 9%. Esses resultados foram consistentes com os resultados fornecidos pelo UNODC, confirmando boa acurácia baseada na avaliação do teste T pareado, com a aceitação da hipótese nula. Além disso, todas as amostras de NSP tiveram suas estruturas confirmadas por análises de RMN mono- e bidimensionais de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e todos os sinais foram atribuídos inequivocamente. A quantificação das amostras de NPS também mostrou bons resultados, com valores de coeficientes de variação abaixo de 3%. A quantificação por meio da técnica de NMRq de  $^1\text{H}$  e padrão interno também se mostrou adequada para fins forenses, apresentando uma incerteza do método calculado igual a  $99,46 \pm 0,44\%$ . Bons resultados de precisão e exatidão também foram obtidos, com valores de coeficiente de variação abaixo de 10%. Algumas figuras de mérito (seletividade do método, limite de detecção, limite de quantificação e estabilidade das amostras de NPS) foram avaliadas e mostraram que o método é seletivo, além de possuir baixos limites de quantificação e detecção. As amostras permaneceram estáveis por um período de 48 horas após a preparação.

**Palavras-chave:** RMN, validação, NSP, UNODC.

## ***ABSTRACT***

New psychoactive substances (NPS) are drugs that recently appeared in illegal market as alternatives to common drugs of abuse. The global phenomenon of NPS leads to a great effort of intelligence services and public health agencies to adopt ways of controls this substance. However, significant analytical challenges are associated with this illegal activity, including the difficulty to obtain reference material to identify, characterize and quantify the large number of different NPS. In this sense, there are many inherent advantages of using qNMR, such as, minimal sample preparation, no sample destruction, simple experimental setup. But the most interesting advantage, especially in the case of forensic analysis, is the fact that it is not necessary to use a standard reference to perform quantitative measures. In this sense, the present work evaluated the use of the  $^1\text{H}$ -qNMR as a method for quantitative analysis of forensic. For this purpose, samples provided by the UNODC (United Nation Office on Drug and Crime) exercise program and samples of NPS seized by the Brazilian Federal Police were characterized and the quantification was performed using the  $^1\text{H}$ -qNMR with the addition of an internal standard. The results for the UNODC samples were excellent, with coefficients of variation (CV%) below 2% and relative errors below 9%. These results were consistent with the results provided by UNODC, confirming good accuracy based on evaluation of paired t-test, with the acceptance of the null hypothesis. Moreover, all NPS samples had their structures confirmed by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  mono- and bidimensional NMR analyzes and all signals were unequivocally assigned. The quantification of NPS samples also showed good results, with values of coefficients of variation below 3%. The quantification by  $^1\text{H}$ -qNMR and internal standard methodology was adequate for forensic purposes, showing an uncertainty of the calculated method equal to  $99.46 \pm 0.44\%$ . Good results of precision and accuracy were also obtained, with coefficient of variation values below 10%. Some figures of merit (method selectivity, limit of detection, limit of quantification and stability of the NPS samples) were evaluated and showed that method is selective, as well as has low limits of quantification and detection. Samples remained stable for a period of 48 hours after preparation.

**Keywords:** NMR. Validation. NPS. UNODC.

## 2 INTRODUÇÃO

### 2.1 Ressonância Magnética Nuclear

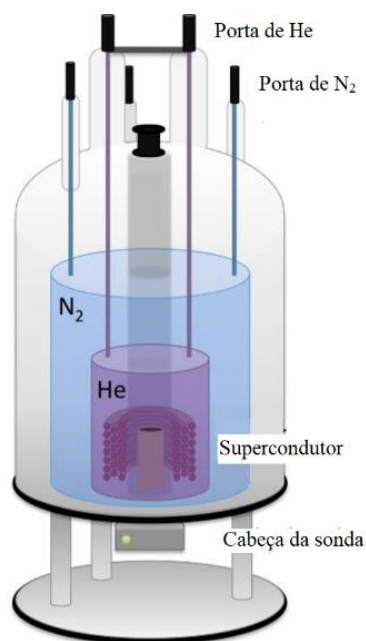
O avanço de muitas pesquisas científicas está fundamentado na caracterização de moléculas e, portanto, na elucidação ou comprovação das estruturas do material de estudo. Algumas técnicas, como a espectroscopia de infravermelho e espectrometria de massa, se sobressaem pela grande capacidade de fornecer informações estruturais, como por exemplo, informações sobre grupos funcionais, substituições aromáticas, massa molar, entre outros. Porém, a técnica que torna a elucidação estrutural mais eficaz e de forma acertada é a ressonância magnética nuclear (RMN). Por meio da análise dos espectros de RMN é possível avaliar o ambiente químico de cada nuclídeo, a área de cada sinal, que é proporcional a quantidade de núcleo que dá origem a esse sinal, bem como as suas relações de acoplamento com núcleos da vizinhança. Dessa maneira, é possível atribuir todos os sinais com respectivos grupos da molécula e é possível descrever corretamente a estrutura da molécula a qual se está trabalhando.

O fenômeno de ressonância foi avaliado com sucesso em líquidos e sólidos no ano de 1945 por dois grupos distintos, que tinham como principais responsáveis os físicos Edward Purcell e Felix Bloch, e que pertenciam a universidades distintas, com metodologias distintas, porém, com objetivos semelhantes. Purcell trabalhava com detecção de energia via radiofrequência advinda da ressonância. Já Bloch trabalhava com a tensão induzida pela bobina ortogonal ao campo magnético a partir da coerência de fase na precessão dos spins<sup>1</sup>. Essa descoberta lhes rendeu o Prêmio Nobel no ano de 1952 e, em sua palestra, Purcell já descrevia procedimentos quantitativos básicos e de controle de processamentos por RMN<sup>2</sup>. Desde então, foram sendo desenvolvidas pesquisas e técnicas que melhoraram o equipamento de forma a se obter dados de alta resolução e que ajudaram a comunidade científica a crescer em suas pesquisas, tornando a elucidação de estruturas mais apropriada.

O momento crucial para a técnica de RMN ocorreu nos anos 1950 quando se descobriu que a frequência de ressonância tinha relação direta com o ambiente químico no qual o núcleo estava imerso e que cada nuclídeo podia influenciar na ressonância do nuclídeo vizinho a partir das ligações químicas<sup>3</sup>. Mais tarde, nos anos 1960,

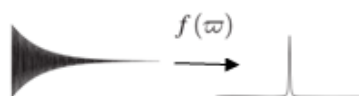
implementou-se a rotação da amostra, que eliminaria a inhomogeneidade do campo e traria mais resolução para o espectro. Ainda na mesma década, desenvolveu-se a tecnologia de um dos principais experimentos usados até hoje, o desacoplamento de spin, permitindo a compreensão de interações inter e intramoleculares e a obtenção de espectros mais simplificados <sup>3</sup>. Em 1970, foi introduzida uma modificação instrumental que se tornou um grande marco durante todos esses anos de desenvolvimento do equipamento de RMN, o uso de materiais supercondutores para o aumento da intensidade do campo magnético e, conseqüentemente, na sensibilidade e resolução dos espectros. Nos anos de 1980 e 1990, foram aprimorados os métodos de multipulsos e gradiente de campo, que se tornaria uma ferramenta dos espectros de rotina. Atualmente, a técnica de RMN é uma ferramenta bastante desenvolvida e de alta tecnologia que se tornou fundamental e indispensável para pesquisas.

O equipamento de RMN é composto por um campo magnético fixo e estável gerado por uma bobina composta de material supercondutor. Para que esse material tenha propriedades supercondutoras, a bobina precisa estar imersa em um tanque de hélio líquido, o qual está na temperatura de aproximadamente 4 K, usado para o seu resfriamento que, na ausência de resistência elétrica, gera um campo magnético de alta frequência. Este, por sua vez, está envolvido por outro tanque, de nitrogênio líquido, que possui uma temperatura mais elevada de 77 K, dessa forma diminui-se a perda de hélio para o ambiente por evaporação<sup>3</sup> (Figura 1).



**Figura 1** Esquema do equipamento RMN com identificação dos principais componentes.

O equipamento também conta com uma sonda que é composta por bobinas de radiofrequência que emitem e captam a radiação eletromagnética gerada durante os experimentos. Como a sonda é responsável pela excitação da amostra, ela deve distribuir homogeneamente a potência pela amostra para que essa seja excitada uniformemente. Além disso, a sonda deve ser suficientemente sensível às baixas concentrações e suportar variações na temperatura<sup>3,4,5</sup>. O sinal detectado é chamado de decaimento livre de indução (FID). O FID surge a partir do retorno dos núcleos excitados ao seu estado fundamental devido à relaxação do spin<sup>3,4,5</sup> (Figura 2).



**Figura 2** Decaimento de um FID. Imagem baseada no livro de Claridge, 2009<sup>4</sup>.

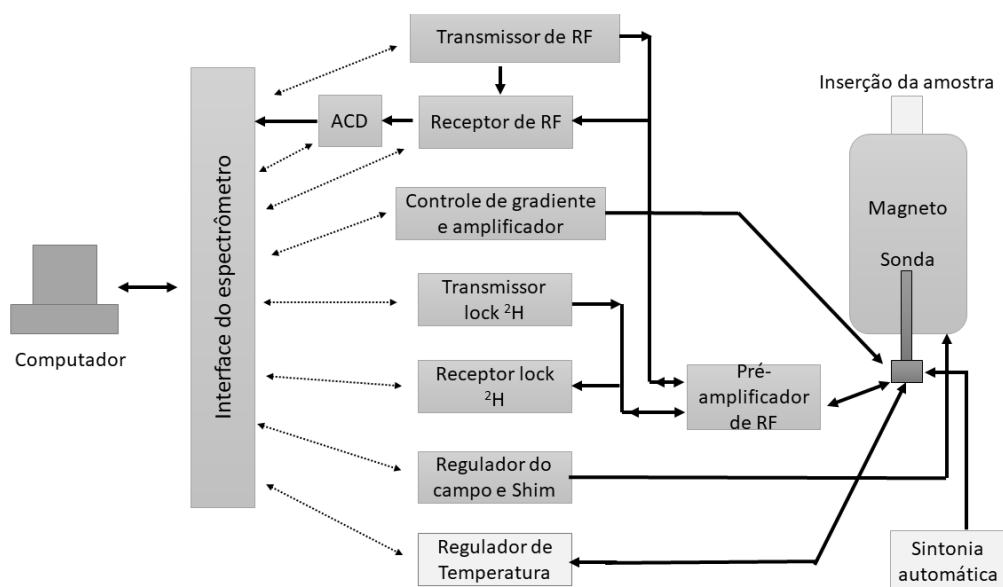
Como os dados são obtidos no domínio do tempo, e o que interessa em um espectro de RMN é a informação no domínio de frequência, é necessário utilizar a transformada de Fourier (ft), uma equação matemática em que estão presentes as duas componentes, domínio de tempo (f(t)) e domínio de frequência (f(ω)) (Equação 1):

$$f(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t)e^{i\omega t} dt \quad (\text{Eq.1})$$

onde o termo exponencial da equação,  $e^{i\omega t}$ , pode ser reescrito como duas funções de onda  $\cos \omega t + i \sin \omega t$ . Portanto, é possível observar dois domínios de frequência, diferindo apenas na fase. Existem dois conjuntos de dados nessa expressão, um composto por números reais e outro composto por números imaginários (simbolizado pelo  $i$ ). Entretanto, os dados compostos por números reais são mais comumente usados por conter o espectro de absorção puro e os dados compostos por números imaginários, as dispersões, é geralmente descartada<sup>4</sup>.

A Figura 3 esquematiza o percurso do sinal gerado pela amostra até o computador conectado ao espectrômetro. De forma resumida, o sinal é gerado a partir da excitação do spin, com uma radiação eletromagnética de frequência específica e, ao retornar ao seu estado fundamental, emite energia na faixa da radiofrequência, a qual é detectada pela

bobina da sonda<sup>3,4,5</sup>. A radiofrequência detectada é transmitida para o pré-amplificador que, como o próprio nome já infere a sua ação, amplifica o sinal de radiofrequência de forma a ter o valor eletricamente ajustado. Em seguida, o sinal amplificado é conduzido até o console, que nada mais é do que um sistema elétrico de placas que controlam os transmissores de radiofrequência, bobinas de homogeneidade de campo magnético (*shim*), detecção, e faz o papel de receptor de sinal que está ligado diretamente ao computador<sup>3,4,5</sup>.



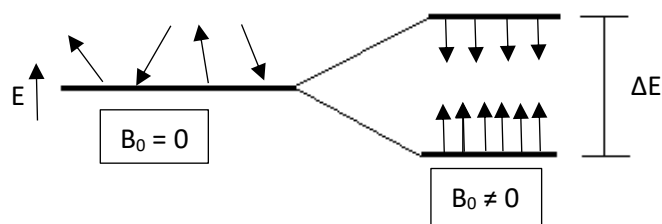
**Figura 3.** Esquema de detecção e transmissão do sinal de RMN até o computador, onde o espectro é gerado. Imagem baseada no livro de Claridge, 2009<sup>4</sup>.

O sinal da RMN surge em decorrência do spin nuclear. O spin nuclear é uma propriedade fundamental do núcleo e pode ser compreendido como uma pequena esfera positivamente carregada e movimentando-se circularmente ao redor do seu próprio eixo. É expresso pela simbologia  $I$  e pode assumir valor maior ou igual a zero ou múltiplos de  $1/2$ , sendo o  $I=0$  dito um núcleo sem spin nuclear (núcleo silencioso) e, portanto, que não possui sinal na RMN<sup>4</sup>. O fato de o núcleo possuir spin dará origem a um momento angular ( $P$ ) e um momento magnético ( $\mu$ )<sup>3,4,5,6</sup>.

Ao se aplicar um campo magnético ( $B_0$ ) em uma amostra, o momento magnético se alinha o campo  $B_0$ . Dessa forma, o spin pode se orientar paralelamente ( $\alpha$ ) ou antiparalelamente ( $\beta$ ) ao sentido do campo. Cada orientação possui uma energia correspondente, o que leva a uma diferença de população entre as duas orientações possíveis<sup>4,5</sup>. Na figura 4, está disposto o diagrama que representa as orientações dos spins



na presença e ausência de campo magnético para um núcleo de spin  $1/2$ . O sinal de RMN é obtido quando o spin, após a absorção de energia quantizada, retorna ao estado fundamental, emitindo radiofrequência<sup>3,4</sup>.



**Figura 4** Diagrama de energia dos spins com a campo magnético igual a zero e diferente de zero.

Considerado um dos processos mais importante para a ressonância, a relaxação pode ser definida como o tempo necessário para os spins retornem completamente ao seu estado fundamental de equilíbrio térmico após a excitação<sup>3,4,6</sup>. Ao se comparar a RMN com técnicas em que ocorrem transições eletrônicas, percebe-se que uma diferença clara entre elas e a técnica de RMN, e essa diferença é o tempo de vida de excitação dos spins. O tempo de excitação dos spins na técnica de RMN é extremamente alto, cerca de minutos e, por isso, ao contrário do que normalmente se pensa, a relaxação não é algo espontâneo. Assim, a variação dos momentos magnéticos dos spins vizinhos auxilia na indução da relaxação, bem como a movimentação aleatória dos núcleos, a qual gera um campo magnético flutuante que, quando atinge a frequência de Larmor, estimula a relaxação do spin. Se a relaxação não for completa, o espectro será prejudicado com relação à sensibilidade, já que, se o próximo pulso de radiofrequência for realizado sob um spin não relaxado, ocorrerá a saturação do sinal<sup>3,4,6</sup>.

A relaxação pode ocorrer de acordo com dois processos conhecidos como relaxação longitudinal e relaxação transversal. A relaxação longitudinal é a mais conhecida, também chamada de  $T_1$  ou relaxação spin-rede. Esse é um processo entálpico, onde o equilíbrio populacional é reestabelecido ( $N_\alpha > N_\beta$ ) devido à perda de energia que é transferida para os spins na forma de calor<sup>4</sup>. A partir dessa explicação, fica mais claro o motivo de também ser chamada de relaxação spin-rede, uma vez que a energia perdida é dissipada pela rede estrutural e sua eficiência é influenciada pela forma como a molécula

se movimentam pela rede, viscosidade e temperatura <sup>7</sup>. O tempo ideal de recuperação pode ser estimado a partir de  $5T_1$ , ponto em que cerca de 99,33% dos spins já retornaram para o equilíbrio. Para o hidrogênio, tem-se valores de  $T_1$  entre 0,5 e 5 segundos, já para o  $^{13}\text{C}$ , os tempos de relaxação são maiores e podem se estender até 10 segundos. Desta maneira, para um  $T_1$  igual a 2 segundos o ideal é esperar aproximadamente 10 segundos para que a relaxação seja completa. A forma mais rápida e comum de medir experimentalmente  $T_1$  é realizando o experimento de Inversão e Recuperação (*inversion recovery*), onde é realizada uma perturbação no equilíbrio do spin e em seguida é aplicado um pulso de radiofrequência a  $180^\circ$  para inverter a população ( $N_\beta > N_\alpha$ )<sup>3,4,5</sup>.

A relaxação transversal, também conhecida como relaxação spin-spin, ou simplesmente,  $T_2$ , ocorre naturalmente e simultaneamente à  $T_1$ . A diferença entre os dois mecanismos de relaxação é que  $T_1$  ocorre pela perda de energia dos spins para o sistema, enquanto  $T_2$  ocorre a partir do processo chamado de *flip-flop*, ou troca de energia entre os spins por meio de processos entrópicos<sup>4</sup>.

Para se adquirir um espectro corretamente, com boa sensibilidade e boa resolução, parâmetros importantes devem ser avaliados, dentre eles número de varreduras (NS), número de pontos (TD), tempo de aquisição (AQ), janela espectral (SW), tempo de relaxação ( $T_1$ ), ganho do receptor (RG). Para espectros quantitativos, é importante saber que o tempo de espera necessário deve respeitar a relação  $D1 + AQ = 5T_1$ , onde D1 é o tempo de espera entre um pulso e outro.

A relação Sinal/Ruído também influencia na resolução de um espectro, uma vez que o aumento desta resulta no aumento, também, da sensibilidade do equipamento. A partir da equação 2, pode ser observado quais os parâmetros devem ser alterados para se obter maior relação sinal/ruído (S/R).

$$\frac{S}{R} \propto NAT_s^{-1} B_0^{3/2} \gamma^{5/2} T_2^* (NS)^{1/2} \quad (\text{Eq. 2})$$

sendo N o número de mols,  $T_s$  a temperatura, NS número de varreduras, A a abundância do núcleo,  $T_2^*$  é considerada como a combinação de duas formas diferentes em que o campo magnético pode variar na amostra: i) a partir da inomogeneidade do campo magnético estático  $B_0$ ; ii) aumento do campo magnético flutuante a partir das interações inter e intramoleculares da amostra (também chamada de relaxação natural), e  $B_0$  o campo magnético fixo. Quanto maior essa relação, maior a sensibilidade do espectro

obtido. Assim, é possível observar que, por exemplo, com o aumento do número de varreduras do espectro, há o aumento da relação  $S/R^4$ . Esse parâmetro de aquisição é o parâmetro mais utilizado como forma de aumentar a sensibilidade de um espectro, por ser uma solução simples. É importante também analisar que a abundância natural e constante magnetogírica ( $\gamma$ ), ambas características do núcleo de trabalho, possuem suas influências na sensibilidade do espectro obtido<sup>4</sup>.

Na Equação 3, tem-se a relação entre resolução digital (DR) e tempo de aquisição (AQ).

$$DR = \frac{1}{AQ} \quad (\text{Eq. 3})$$

Dessa maneira, para serem coletados espectros com boa resolução digital é preciso tempos de aquisição altos, sabendo que quanto menor for o valor de DR mais bem resolvido será o espectro<sup>2</sup>. Para melhorar a resolução do FID, basta aumentar o número de pontos da aquisição (TD) ou diminuir a janela espectral (SW). Porém, alterar o valor da janela espectral não é muito interessante, já que ao diminuir esse parâmetro, maior será o AQ e, ainda, existirá a possibilidade de ocorrer a perda de sinais localizado nas extremidades do espectro (Equações 4 e 5).

$$AQ = \frac{TD}{2SW} \quad (\text{Eq. 4})$$

$$FID_{\text{res}} = \frac{SW}{TD} \quad (\text{Eq. 5})$$

Os parâmetros comentados acima são de grande importância e devem ser analisados a cada experimento, podendo mudar a depender da amostra, e de características específicas de núcleos, como por exemplo tempo de relaxação dos spins, resolução dos sinais, concentração da amostra, etc.

## 2.2 Quantificação por RMN

Além de ser utilizada para elucidação de estruturas orgânicas e inorgânicas, a técnica de RMN vem se tornando cada vez mais importante em áreas da química analítica para a realização de medidas quantitativas (RMNq). A RMNq possui algumas vantagens

muito importantes frente às outras técnicas, sendo elas: a falta de necessidade de calibração repetidamente, uma vez que o equipamento se mantém estável por mais tempo, o baixo tempo de análise, a técnica não é destrutiva, a possibilidade de determinar mais de um analito em uma mistura, o fácil preparo de amostra, entre outros. Mas o que torna a RMN uma técnica tão eficaz e favorável para a quantificação é o fato de esta ser uma técnica primária ou técnica absoluta, isto é, por existir uma relação de proporcionalidade entre a concentração do analito e o sinal analítico, eliminando assim a necessidade do uso de material de referência contendo o analito de trabalho<sup>8,9</sup>. A depender do padrão de referência (padrões analíticos), em muitos casos, este pode ser muito difícil de ser encontrado e/ou, ser extremamente caro, o que torna a análise inviável. No âmbito da química forense, isso se torna ainda mais importante, já que a rapidez com que as novas substâncias surgem é extremamente alta, e o desenvolvimento de materiais de referência é difícil<sup>9,10</sup>.

A RMNq é uma técnica ainda pouco difundida, sendo mais comumente aplicada às análises farmacêuticas, em indústrias químicas e para análise de drogas na área forense<sup>9,10</sup>, além de serem encontrados muitos trabalhos com caráter biológico. Na área farmacêutica existem diversos trabalhos já publicados, como por exemplo, a tese de Santos (2014)<sup>11</sup>, em que nela foi desenvolvida metodologia de quantificação para o controle de qualidade de produtos farmacêuticos (paracetamol encontrado em alguns medicamentos) por padrão interno e de produtos agrícolas (glifosato) por referência externa. Já na área forense, a quantidade de trabalhos é bem reduzida, sendo mais comum a caracterização por RMN. Recentemente, o trabalho de Benedito et al (2017)<sup>12</sup> discute a caracterização e quantificação de cocaína por RMNq utilizando o método PULCON (Pulse Length based on Concentration), método de referência externa. Neste artigo, foram quantificadas a cocaína, componente majoritário, mas também a *trans*-cinamoilcocaína e *cis*-cinamoilcocaína, componentes minoritários, a partir da análise de 26 amostras apreendidas no período de 2011 a 2015 em alguns estados brasileiros. Para as amostras de Novas Substâncias Psicoativas (NSPs), os trabalhos publicados utilizando métodos quantitativos por RMN são menores ainda, sendo a cromatografia acoplada de um espectrômetro de massa como o CG-MS, LC-MS e, cromatografia líquida, HPLC, as técnicas mais utilizadas para essa finalidade. No trabalho de dissertação de Araujo (2013)<sup>13</sup>, foram realizadas análises qualitativas de catinonas sintéticas por GC-MS e RMN, e quantitativas por CG-MS. As amostras foram obtidas a partir de lojas de

*Smartshops*, as quais foram analisadas quanto à composição e realizados testes de toxicidade *in vitro*. Já no artigo de Zhao et al. (2018)<sup>14</sup>, um dos poucos a utilizar o RMN como ferramenta quantitativa, foi detectada e quantificada a presença de drogas da classe das Fenetilaminas, também pertencentes às NSPs, em suplementos esportivos, sendo o primeiro método de RMN a ser utilizado para o propósito. Nesse trabalho, a quantificação é realizada por um método de padrão interno, baseada em uma curva de calibração individual de cada substância, sendo plotada a partir da razão da área do sinal do analito pelo sinal da referência interna, no caso TMS, *versus* a concentração correspondente ao longo da faixa de concentração da calibração<sup>14</sup>.

Os métodos utilizando RMNq são diversos, mas na literatura são encontrados com maior frequência métodos utilizando padrão interno, padrão externo e por calibração de pulso elétrico (ERETIC e Quantas)<sup>15</sup>. Cada método possui vantagens e desvantagens, porém as mais relevantes são referentes à contaminação da amostra, recuperação do analito e capacidade de gerar resultados mais precisos. No caso da metodologia com o uso de padrão interno, haverá a adição de um novo componente à amostra e, assim, a sua recuperação será mais trabalhosa, por outro lado a precisão é maior e menor incerteza é atribuída ao método<sup>10</sup>. Quando é optado por utilizar o padrão externo como metodologia, o problema de contaminação e recuperação do analito que se tinha quando era adicionado o padrão interno (já que ambos, padrão interno e analito, encontram-se no mesmo recipiente), não é mais visto, uma vez que são colocados em recipientes distintos. Por outro lado, a incerteza associada é maior, pois maior será a quantidade de termos analisados como temperatura, massa do solvente e analito, pureza do padrão, área do sinal, entre outros, e conseqüentemente, o método irá possuir uma precisão menor em relação aos seus resultados, já que as incertezas individuais de cada termo está sendo adicionada ao cálculo, quando comparado ao método de padrão interno<sup>10</sup>. Ainda, a mesma solução do padrão pode ser usada para quantificar mais de uma amostra em mais de uma análise<sup>16</sup>.

O método de padrão interno consiste na adição de um padrão certificado à solução que deve cumprir exigências para ser utilizado como tal, sendo elas (i) solúvel no solvente deuterado utilizado; (ii) ser quimicamente inerte; (iii) seu sinal não deve ser sobreponível aos sinais da amostra, (iv) não volátil; (v) não higroscópico; (vi) ser estável e (vii) possuir alta pureza<sup>16</sup>. Os padrões mais utilizados são ácido maléico (AM) e dimetilsulfona (DMS), em geral, o ácido maléico é um bom padrão interno pois, além de seguir todos os

critérios, possui um deslocamento químico em aproximadamente 6,4 ppm que é, normalmente, uma região em que há menor densidade de sinais. Porém, a sua solubilidade se resume a solventes polares como água e metanol. O problema potencial no uso ácidos carboxílicos está na análise de substâncias básicas, como aminas, as quais pode ocorrer uma reação ácido-base.

Como dito anteriormente, a técnica de RMNq possui uma vantagem frente a outras técnicas, pois existe uma relação muito importante entre o sinal do espectro e a estrutura da molécula<sup>8</sup>. A área do sinal, obtida a partir da integral do sinal de interesse, é diretamente proporcional ao número de núcleos correspondentes (Equação 6):

$$I_x = K_s \cdot N_x \quad (\text{Eq. 6})$$

onde  $I_x$  é a área do sinal,  $K_s$  é a constante do espectrômetro e  $N_x$  é o número de núcleos. Como a constante do espectrômetro deve ser igual para todas as equações de um mesmo experimento, ao comparar dois sinais é obtida uma nova relação, sendo agora a razão entre as áreas dos dois núcleos analisados equivalente à razão do número de núcleos referente aos sinais<sup>8</sup>. Seguindo essa linha, a pureza é calculada por uma equação matemática simples, onde são comparadas as áreas e número de núcleos comentado acima (Equação 7).

$$P_x = \frac{I_x}{I_{pi}} \frac{N_{pi}}{N_x} \frac{M_x}{M_{pi}} \frac{m_{pi}}{m_x} P_{pi} \quad (\text{Eq.7})$$

A Equação 7 é utilizada para a determinação da pureza de um analito quando utilizado o padrão interno como referência, sendo  $P_x$  a pureza da amostra a ser calculada,  $M_x$  e  $M_{pi}$  a massa molar da amostra e padrão interno,  $m_x$  e  $m_{pi}$  como a massa pesada da amostra e padrão interno, respectivamente, e  $P_{pi}$  é a pureza do padrão interno utilizado<sup>8</sup>. Assim, para a análise de uma amostra por RMNq é necessário que exista pelo menos um sinal do analito que não esteja sobreposto a nenhum outro sinal da amostra ou sinais de impurezas, assim como o sinal do padrão não deve estar sobreposto ou possuir impurezas sobrepostas ou próximas ao seu sinal<sup>8</sup>.

Além disso, é de extrema importância que o equipamento esteja bem calibrado (boa homogeneidade de campo e boa sintonia da sonda) e esteja configurado para aquisição de espectros para quantificação, visto que os experimentos de rotina, mais

especificamente integração desses espectros, possuem uma exatidão de aproximadamente 10 a 20%, o que prejudica e muito a confiabilidade dos resultados<sup>3</sup>. Para que esse tipo de contratempo seja diminuído, é mais do que necessário evitar alguns procedimentos na hora da aquisição dos dados quando deseja-se realizar um experimento de RMN quantitativo, principalmente prezar que o tempo de espera entre os pulsos respeite o tempo equivalente a  $5T_1$  do núcleo de maior tempo de relaxação  $T_1$ . Outro ponto relevante é digitalização do espectro, pois espectros com baixa resolução digital geram sinais com multiplicidade e integrais equivocadas, levando à interpretação incorreta<sup>3,6</sup>.

Depois da aquisição, o processamento dos dados é parte mais importante para a obtenção de dados quantitativos com maior precisão, em especial a integração dos sinais. A integração deve ser feita com cautela, pois deve cobrir toda área relativa ao sinal, incluindo os sinais satélites de algum átomo que não foi desacoplado. O ajuste da fase e da linha de base também são de suma importância. Sinais fora de fase e espectros sem correção ou com distorções na linha de base acarretarão em um erro na integração dos sinais e, conseqüentemente, maior será a incerteza associada ao método<sup>3,5,6</sup>.

### **2.3 Validação de método**

A validação de um método analítico nada mais é do que a avaliação do método quanto a sua eficiência, tendo como principal objetivo comprovar a adequação do método ao instrumento de trabalho e à finalidade proposta<sup>17</sup>. Dessa maneira, a validação deve ser considerada quando se tem o desenvolvimento de um novo método ou adaptações à métodos já validados<sup>17</sup>. O grande motivo desse procedimento é o fato de que para se obter uma boa medida é necessário saber os pontos fortes e fracos do método a ser utilizado, como por exemplo a quantidade mínima necessária de amostra para que se tenha um resultado satisfatório (limite de quantificação e detecção)<sup>18</sup>. Para isso, é necessário seguir uma sequência de parâmetros que são descritos na literatura, possuindo referência nas normas estipuladas pela ISO/IEC da ABNT, como os documentos fornecidos pelo INMETRO (como por exemplo o documento de orientação para validação de métodos de ensaios químicos - DOQ-CGCRE-008). Além disso, o laboratório de análise deve estar ciente e seguir a ISO/IEC 17025 determinada pela ABNT, que trata dos requisitos gerais para laboratórios de ensaio e calibração<sup>17</sup>. Esses documentos consistem na descrição de parâmetros, também chamados de figuras de mérito, que contém informações relevantes

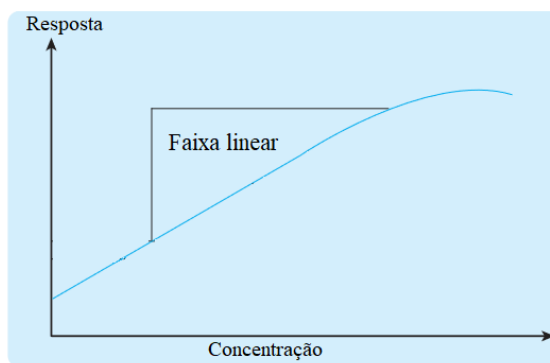
sobre as análises, além de possuírem sugestão de guia de planejamento para a validação completa<sup>19</sup>.

Dessa maneira, os parâmetros básicos para tornar um método adequado ao uso são especificidade e seletividade, linearidade, faixa de trabalho, sensibilidade e limite de detecção (os quais podem ser compreendidos da mesma maneira) precisão e a incerteza na medida (que também estão correlacionadas), limite de quantificação, exatidão e robustez<sup>17,18</sup>. A definição das figuras de mérito a serem validadas fazem, portanto, parte do processo de validação. Nesse sentido, é necessário o conhecimento de quais são os parâmetros (mencionados acima) a serem avaliados, quais deles vão alcançar os objetivos desejados, ou seja, comprovar a adequação do método para análise e como ela deve ser executada<sup>10</sup>.

É comum tratar como sinônimos os termos especificidade e seletividade, porém são dois conceitos diferentes. A especificidade é a capacidade do método em identificar o(s) analito(s) em meio à matriz, já a seletividade refere-se à medida capaz de diferenciar o analito em meio a uma mistura complexa, na ausência de outros interferentes<sup>20</sup>. Na prática, uma solução teste contendo o analito e todos os possíveis contaminantes, excipientes, adulterantes e participantes é preparada e analisada e o resultado é comparado com a resposta já obtida do analito<sup>21</sup>.

A linearidade se refere à capacidade do método em gerar sinais instrumentais que são linearmente proporcionais à concentração do analito dentro de um intervalo de concentração delimitado<sup>17,18,21</sup>, dessa forma são feitas entre cinco e seis injeções (chamadas de spikes) de um padrão conhecido com variação de concentração de 80 a 120% em relação a concentração esperada da amostra. Com as respostas geradas, é plotado um gráfico resposta *versus* concentração e é feita a regressão linear para encontrar o coeficiente de correlação linear<sup>17,18,21</sup>. Na figura 5, é mostrado um exemplo de gráfico referente a um teste de linearidade, onde é mostrado a região linear na curva.





**Figura 5** Gráfico referente ao teste de linearidade adaptado do artigo de Huber, L.<sup>21</sup>

A faixa de trabalho consiste na determinação do intervalo entre a maior e a menor concentração do analito na amostra onde se tenha exatidão e precisão adequadas para a finalidade do método<sup>17,21</sup>, podendo, então, ser associada à linearidade do método.

O método é dito sensível quando é capaz de diferenciar duas concentrações muito próximas, em outras palavras, a sensibilidade do método atesta a variação da resposta em função da variação da concentração do analito<sup>17,19</sup>. A determinação da sensibilidade, na prática, dar-se-á a partir da curva de calibração, por meio do coeficiente angular e espera-se que pequenas variações na concentração do analito gerem grandes variações no sinal analítico<sup>17</sup>.

Exatidão e precisão são dois termos que são muito confundidos e em alguns casos são considerados, erroneamente, como sendo sinônimos. A exatidão é definida como a concordância entre o resultado da referência e o obtido experimentalmente. Este é influenciado por erros sistemáticos e aleatórios<sup>17,18</sup> e a forma mais simples de ser avaliada é por meio do erro relativo. O maior desafio na medida de exatidão é quando se trata de estudos colaborativos entre laboratórios em que é necessário garantir a estabilidade do analito durante todo o procedimento. Para analisar os resultados entre os laboratórios é feita uma análise de variância a qual verifica a existência de diferença significativa<sup>11</sup>, em outras palavras, é avaliada a reprodutibilidade do método.

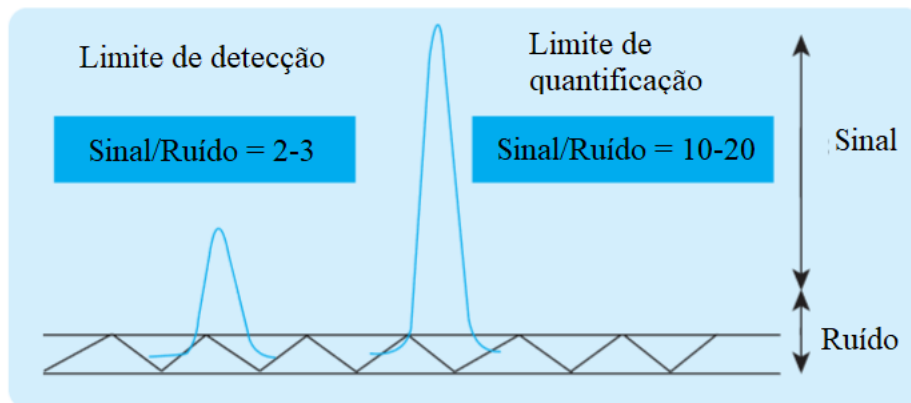
A precisão consiste na concordância na proximidade dos valores medidos em uma série de repetições de uma mesma amostra<sup>17</sup>, ou seja, é uma medida de espalhamento dos resultados que avalia o quão próximos estão entre si<sup>18</sup>. É, normalmente, expressa na forma de coeficiente de variação, desvio padrão ou variância que são equações matemáticas com teor de comparação, as quais são aplicadas à conjuntos de amostras e ainda pode ser considerada em três níveis: repetitividade, precisão intermediária e reprodutividade<sup>17</sup>. A

repetitividade expressa a precisão de uma medida dentro de um mesmo cenário, em outras palavras, no mesmo laboratório, sob as mesmas condições, mesmo analista, com as mesmas replicatas, sendo analisadas em um curto período de tempo<sup>17,18,19</sup>. Precisão intermediária é essencialmente o contrário da repetitividade, ela expressa a dispersão dos valores quando feita em um mesmo laboratório, contudo, em dias diferentes, analistas diferentes e equipamentos diferentes<sup>17</sup>. E, por fim, a reprodutividade é responsável pela avaliação da precisão das amostras no âmbito interlaboratorial, isto é, ela avalia a variação da precisão quando muda-se o laboratório e analista. Portanto, o método é dito preciso se os níveis em que forem analisados, mais comumente, um nível de confiança de 95%, estejam dentro do aceitável.

Quando se trata de desenvolvimento de um método, é importante também saber quais os parâmetros que mais o afetam e como esses parâmetros afetam os resultados, logo, é necessário um teste que avalie a robustez. Essa medida está relacionada com eficiência do método em se manter inalterado ou praticamente inalterado sob pequenas variações nas condições de experimento. Ao identificar os parâmetros que mais influenciam um método, é possível controlá-los para evitar que o experimento seja afetado<sup>17,18</sup>. Para essa determinação, pode ser realizado um planejamento fatorial envolvendo os parâmetros como pH, temperatura, volume<sup>21</sup> e, no caso do RMNq, número de varreduras, tempo de relaxação  $T_1$  e variá-los na quantidade de níveis de interesse, podendo variar em dois níveis (mais e menos) ou três níveis ( mais, zero e menos) e enfim, realizar as análises estatísticas que resultarão nas influências<sup>22</sup>. Além do planejamento, é também muito comum determina-la a partir do teste de Youden que não só avalia a robustez do método como ordena a influência dos parâmetros<sup>19</sup>.

O limite de detecção (LD) é caracterizado como sendo a menor concentração possível do analito em uma amostra capaz de ser detectada, mas não necessariamente quantificada<sup>17,21</sup>. Limite de quantificação (LQ) é a menor concentração possível do analito em uma amostra capaz de ser detectada e quantificada gerando resultados com exatidão, precisão e incertezas aceitáveis. Assim, o LQ é responsável por determinar a concentração mínima em que valores abaixo dela tornará o experimento inapropriado e não confiável para a quantificação. Na figura 6 é mostrado no gráfico os dois limites LD e LQ e observa-se que não necessariamente os dois são iguais. No caso da RMNq, tanto o LQ quanto o LD podem ser determinados a partir da relação Sinal/Ruído (S/R), sabendo

que uma boa S/R para a detecção é de aproximadamente 3 e para a quantificação é de  $10^{21}$ .



**Figura 6** Relação Sinal/Ruído para limite de detecção e quantificação por RMN. Figura adaptada do artigo de Huber L, 2010<sup>21</sup>

Toda e qualquer medida possui uma incerteza associada como, por exemplo, a balança analítica que possui o erro instrumental ou o padrão de referência que possui incerteza em relação à pureza. Logo, a incerteza é um parâmetro relativo à medida. Cada medida que possui incerteza é descrita por uma relação matemática para fornecer o valor final de forma combinada àquele resultado<sup>18</sup>. As fontes mais comuns de incertezas são efeito de matriz, interferências indesejadas, erro na amostragem, condições experimentais, incertezas instrumentais, erros sistemáticos entre outros<sup>23</sup>.

A tabela 1 contém figuras de mérito avaliadas no desenvolvimento de um novo método e informações relevantes sobre como utilizá-las em prol do tipo de análise. Por exemplo, para análises em que o analito se encontra em concentração traço, é de extrema importância realizar todas, em especial, o teste de limite de detecção e quantificação, já que sua concentração é tão baixa que existe a probabilidade de o equipamento e/ou método não responder como deveria e gerar resultados como falsos negativos ou falsos positivos. Já para análises em que a concentração é maior, esse passo se torna dispensável.

**Tabela 1.** Relação do uso das figuras de mérito com o tipo de análise a ser desenvolvida. Adaptado do artigo In-House Method Validation - A guide for Chemical Laboratories LGC / VAM, 2003<sup>18</sup>.

Parâmetros	Tipo de análise			
	Qualitativo	Componente majoritário	Análise traço	Propriedades físicas
Precisão		✓	✓	✓
Seletividade/especificidade	✓	✓	✓	✓
Exatidão		✓	✓	✓
Robustez	✓	✓	✓	✓
Linearidade/ sensibilidade/ faixa de trabalho		✓	✓	✓
Limite de detecção	✓		✓	
Limite de quantificação			✓	

Após todo o processo de validação, e a partir da obtenção de resultados comprobatórios de que o método está de fato aprovado para análises analíticas quantitativas, a quantificação de amostras reais já pode ser considerada.

## 2.4 Novas Substâncias Psicoativas (NSP)

Todos os anos, o Instituto de Criminalista da Polícia Federal recebe centenas de substâncias químicas para análise e cada vez mais o aumento da apreensão de “novas” drogas, também chamadas de Novas Substâncias Psicoativas (NSP), tem sido observado. Substâncias psicoativas ou psicotrópicas são substâncias que agem diretamente no sistema nervoso central mudando momentaneamente as percepções, humor e comportamento. O termo NSP é empregado não pelo fato de serem novas invenções de drogas, pois em alguns casos essas substâncias são bem conhecidas, mas sim por terem sido disponibilizadas no mercado em um período recente<sup>24,25</sup>. A UNODC (United Nation Office on Drug and Crime) as definiu como sendo drogas de abuso, na forma pura em uma mistura, que não são controladas pelos órgãos governamentais e não fazem parte da lista de substâncias ilícitas controlada pela Convenção de Entorpecentes de 1961 e Convenção de substâncias psicotrópicas de 1971, no entanto oferecem risco à saúde pública<sup>24,25</sup>.

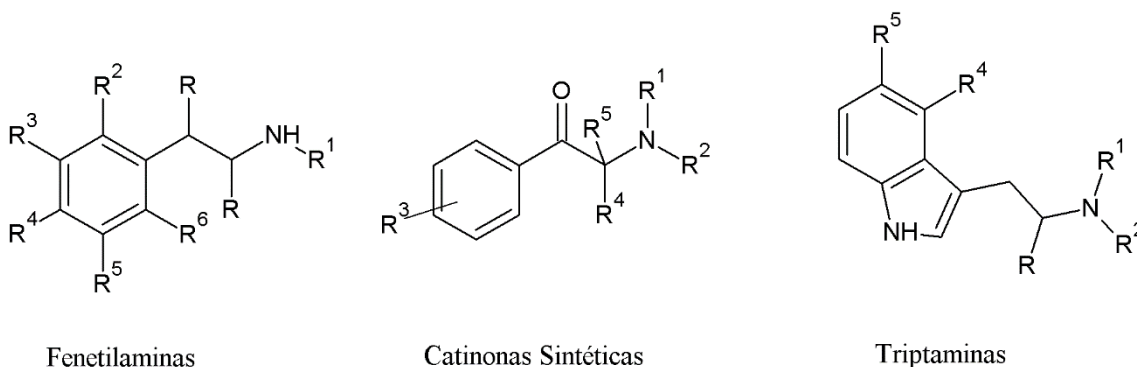
A “guerra” contra as drogas começou muito antes do que se imagina. Durante o século XX ainda era a época de comercialização do ópio, droga de origem natural advinda da planta papaverácea, chamada também de planta da alegria <sup>26</sup>. Com caráter analgésico, os usuários sentiam um relaxamento total e sensação de sonolência e hipnótica, que a depender da dosagem ingerida, causa dependência rapidamente <sup>26</sup>. Com o alto consumo da droga, em 1909, países se reuniram em uma comissão chamada Comissão do ópio de Xangai, dando início à primeira reunião internacional sobre o combate à drogas<sup>27</sup>.

Desde então, esses encontros foram tornando-se mais frequentes, até que, em 1961, houve a Convenção Única sobre Entorpecentes que visou a reação contra drogas de abuso e foram implantadas medidas e ações internacionais, divididas em duas etapas que são complementares entre si. A primeira está relacionada com o porte, uso, distribuição e outras ações correlatas de drogas, e a segunda é o combate ao tráfico junto a outros países, para que seja possível coibir os traficantes<sup>27</sup>. Em 1971, a Convenção sobre Substâncias Psicotrópicas foi uma das mais importantes, por determinar o controle internacional de substâncias psicotrópicas, criando formas de controlar substâncias sintéticas<sup>27</sup>. A terceira convenção sobre drogas foi em 1988, Convenção Contra o Tráfico Ilícito de Entorpecentes e Substâncias Psicotrópicas, que determinou medidas mais amplas sobre os temas abordados nas outras convenções e houve a inclusão do combate à corrupção e lavagem de dinheiro e, determinou a colaboração entre países acerca de assuntos em comum como a extradição de réus<sup>27</sup>.

O que torna as NSP tão perigosas e problemáticas é o fato de que, em sua maioria, são caracterizadas como princípios ativos de remédios controlados que, quando utilizados sem pudor, podem causar sérios danos à saúde como intoxicação, suicídios, dependência, além de serem comercializadas à margem da regulação, tendo a internet como principal meio de venda<sup>24</sup>. A maior dificuldade e desafio das autoridades, tanto brasileiras quanto internacionais, é acompanhar o desenvolvimento e distribuição das NSP, que ocorrem a uma velocidade muito maior do que a relatada e com um elevado número de seus derivados<sup>24</sup>. Dessa forma, a taxação das NSP como ilícita e a sua proibição se tornam tarefas complexas<sup>24</sup>. Para facilitar a identificação, os países que participaram das convenções de 1961 e 1971 estabeleceram uma listagem nominal de cada substância e ainda adicionaram classificações quanto à estrutura e substâncias análogas.

As maiores classes de NSP são as fenetilaminas, catinonas, cetaminas, triptaminas e piperazinas. As fenetilaminas (figura 7) são substâncias caracterizadas por possuir um anel aromático monosubstituído com grupamento amina primária, podendo haver

variações quanto as substituições do grupo alquil. As catinonas (figura 7) tem sua origem em substâncias naturais encontradas nas plantas chamadas khat (*Catha edulis*), são caracterizadas por possuírem um anel aromático com grupo carbonila conjugado e uma cadeia alifática. Triptaminas (figura 7) são baseadas em alcaloides provenientes do aminoácido triptofano. De forma geral, são caracterizadas por possuírem um grupo indol com substituições nas posições 4 e 5 do anel de seis membros e/ou substituições no anel de cinco membros<sup>28</sup>.



**Figura 7** Estrutura das classes mais comumente encontradas das NSP.

No ano de 2007, foi relatada pela primeira vez a apreensão dessas substâncias no Brasil. Mas foi apenas em 2008 que elas passaram a ser controladas pela ONU. Entre 2009 e 2016 já foram reportadas, em 106 países, mais de 739 NPS<sup>29</sup>. Nesse período, no Brasil, as fenetilaminas ganharam destaque entre as NSP por terem sido apreendidas em larga escala, sendo a metanfetamina um exemplo muito conhecido dessa classe. Os canabinóides sintéticos e catinonas também são apreendidos no Brasil em menores proporções<sup>24</sup>. Na conjuntura mundial, as catinonas sintéticas são campeãs em termos de consumo e apreensão, já que são substâncias que estimulam e simulam os efeitos das drogas tradicionais, tais como cocaína e ecstasy<sup>24</sup>.

## 2.5 A UNODC e o Programa de exercício colaborativo internacional (ICE – *International Collaborative Exercise*)

A UNODC é uma das ramificações da ONU, órgão responsável pela paz mundial, que tem como função controlar e prevenir o tráfico de drogas, drogas ilícitas, crimes e

terrorismo. Implementada no ano de 1977, como sendo a combinação de dois programas já existentes, Programa de controle de drogas das Nações Unidas e Centro de prevenção internacional de Crimes, a UNODC trabalha em todo território mundial, com escritórios distribuídos pelos sete continentes, fornecendo assistência aos países com problemas nas áreas de atuação<sup>30</sup>. O programa se baseia em três princípios: 1) Cooperação em forma de projetos para melhorar a capacidade dos países membros em agir contra drogas ilícitas, crimes e terrorismo; 2) Pesquisas e estudos sobre as drogas e o crime envolvido para aumentar o conhecimento sobre elas e melhorar o desempenho em questões de políticas internas e decisões importantes; 3) Desenvolvimento de trabalho normativo para melhor assessorar os estados em retificações e implantação de tratados, desenvolvimento de legislações próprias sobre drogas, crime e terrorismo<sup>30</sup>.

Para melhor atender às necessidades diversas dos países, a UNODC redigiu uma espécie de documento chamado de *Menu* de Serviços em que contém todas as especialidades e áreas em que ela é capaz de atender e ajudar<sup>30</sup>. Certamente são ramos que envolvem a política do programa, logo, uma das áreas é o combate contra o crime organizado e tráfico no qual os países são guiados na forma de reagir e saber contornar situações causadas pela instabilidade e insegurança geradas pelos crimes de contrabando de drogas, armas e pelo bem-estar entre os países e continentes. Outra área de destaque é a prevenção de drogas de abuso e saúde pública, em que são feitas campanhas e reuniões de conscientização da população em relação a drogas ilícitas, dependência e a diferença entre drogas utilizadas para a saúde e as do crime<sup>30</sup>.

A partir do Programa Internacional de Garantia da Qualidade (IQAP em inglês) da UNODC foi criada, no ano de 1995, uma componente muito importante chamada ICE (*International Collaboration Exercise*), ou em português, Exercício Colaborativo Internacional que consiste na avaliação de laboratórios, sejam eles privados ou públicos, de países desenvolvidos ou em desenvolvimento, que visa o monitoramento da performance de tais em análises de drogas<sup>31</sup>. São fornecidos aos laboratórios participantes dois tipos de amostras, os materiais apreendidos nominados pela sigla SM (*Seized Materials*) e os materiais biológicos (BM, *Biological Specimen*), e é solicitada a determinação qualitativa de cada material e é estimulada a análise quantitativa. Anualmente, são oferecidos dois exercícios (um por semestre), com quatro amostras de cada tipo, datados de acordo com o período de envio. Por exemplo, o exercício de 1/2017 equivale ao exercício referente ao ano de 2017 primeiro semestre, desta forma, os

participantes podem comparar seus resultados de acordo com os resultados estipulados por laboratórios de referência da UNODC<sup>31</sup>.

A cada exercício, os laboratórios participantes devem enviar os resultados obtidos a partir de análises de identificação e análises quantitativas, bem como comentários pertinentes, adulterantes, excipientes encontrados em cada amostra, para a Seção de Laboratorio e Científica (LSS, *Laboratory and Scientific Section*) para serem avaliados. Com isso, o retorno fornecido pelo programa ajuda no crescimento individual, de forma que são oferecidos conselhos e assistência aos que não obtiveram resultados satisfatórios<sup>27</sup>. A importância da participação nesse programa é a obtenção de reconhecimento internacional como sendo um laboratório creditado com sistema de qualidade bem administrado de acordo com a norma ISO/IEC 17025<sup>32</sup>.

Além disso, laboratórios creditados internacionalmente e que possuem métodos validados, com os procedimentos adequados para o controle e asseguramento de qualidade podem prover, por exemplo, além de padrões analíticos certificados, informações confiáveis a partir das análises realizadas. Dessa maneira, os resultados obtidos podem cooperar com processos em andamento, dando suporte às leis estipuladas para cada país, auxiliar as inteligências locais como localização de possível fonte de origem da droga, traçar uma rede de distribuição dessas drogas e estabelecer possíveis riscos à sociedade<sup>33</sup>.



### 3 OBJETIVOS

Os objetivos gerais do presente trabalho são

- I. Avaliar as adaptações do uso da técnica de RMNq de  $^1\text{H}$  e padrão interno como método para análises quantitativas de amostras forenses,
- II. Caracterizar e confirmar a estrutura das amostras de NSP apreendidas pela Polícia Federal que serão utilizadas nos estudos de quantificação deste trabalho por meio dos espectros de RMN mono e bidimensionais de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

Para atender tal finalidade, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar o desempenho do método de RMNq de  $^1\text{H}$  e padrão interno a partir da comparação dos resultados obtidos para as amostras dos exercícios da UNODC (2/2015 a 2/2017) com os valores de pureza de referência disponibilizados;
- Avaliar a precisão e exatidão do método de RMNq de  $^1\text{H}$  e padrão interno;
- Determinar a incerteza, a seletividade do método, bem como o limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) para cada amostra;
- Determinar a estabilidade das amostras de NSP;
- Confirmar a estrutura das amostras de NSP por meio da atribuição inequívoca de todos os sinais dos espectros de RMN monodimensionais de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e dos espectros bidimensionais  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC.

## 4 MATERIAS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida utilizando a metodologia de padrão interno, que consiste na adição de quantidade conhecida de um padrão de alta pureza certificado (MRC). Os dois padrões mais utilizados no desenvolvimento de métodos de RMNq de  $^1\text{H}$  são o ácido maléico (AM) e a dimetilsulfona (DMS) e, estes foram utilizados nos experimentos de acordo com a solubilidade das amostras da UNODC e NSPs nos solventes. Em sua maioria, o solvente utilizado foi o óxido deuterado ( $\text{D}_2\text{O}$ ), ou comumente chamado de água deuterada, e como padrão interno AM, por causa da solubilidade do mesmo. Também houve amostras em que foi utilizado o clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) com DMS como padrão interno e metanol deuterado ( $\text{MeOD-d}_4$ ) com o padrão interno AM. O AM utilizado em todas as análises foi o de grau HPLC, analisado e quantificado por Almeida (2016)<sup>15</sup> a partir do método desenvolvido e validado em sua pesquisa.

Como referência interna dos espectros de RMN foram empregados o TSP (Ácido 3-trimetilsililpropanóico-2,2,3,3- $\text{d}_4$ ) solúvel em  $\text{D}_2\text{O}$ , e o TMS (Tetrametilsilano) para os demais solventes. Ambos possuem deslocamento químico em 0,0 ppm e multiplicidade igual a um simpleto.

### 4.1 Análise por RMN

#### 4.1.1 Preparo de amostra

Todas as amostras foram preparadas no laboratório de química forense do Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal em Brasília (SEPLAB/INC) sob a supervisão dos peritos Monica Paulo e Adriano O. Maldaner.

As amostras foram preparadas em *ependorffs* e pesou-se em balança analítica XP 205, Mettler Toledo ( $\pm 0,01$  mg) a qual era conferida a calibração a cada pesagem com material de massa conhecida e estável de aproximadamente 16,25 mg. A maioria das substâncias apreendidas e as enviadas pela UNODC estava na forma de pó e, para homogeneização e redução do tamanho dos cristais e, conseqüentemente melhorar a solubilização, foram utilizados o almofariz e pistilo de vidro.

Foram preparadas soluções em triplicata, e quando não havia material suficiente, em duplicata, pesando entre 10 e 12 mg do analito juntamente com 8,0 a 9,0 mg do padrão interno e solubilizadas em, aproximadamente, 0,7 mL de solvente adicionado com pipeta automática e agitado no vortex durante 1 minuto. Como forma de controle do equipamento e, portanto, do método, foram preparadas soluções controles contendo dois padrões, AM e DMS, pesando-se entre 10-12 mg e entre 8,0-9,0 mg, respectivamente, e solubilizado em 0,7 mL de D<sub>2</sub>O. Dessa forma, o AM era tratado como analito e o DMS como padrão interno e então, analisado por RMN de <sup>1</sup>H e quantificado. Como a pureza de ambos é conhecida, pode-se avaliar a precisão para aquelas medidas.

Para duas amostras da UNODC, SM2 do exercício de 2/2016, JWH-073, e SM2 do exercício 2/2015, Nimetazepam, foi necessário colocar em banho ultrassônico por 5 minutos e levar à centrifuga em 2000 rpm por 2 minutos. O sobrenadante foi coletado com pipeta de vidro e transferido para o tubo de RMN. Quando o volume mínimo da solução não era atingido, completou-se com solvente (CDCl<sub>3</sub>).

Para a amostra DOC do grupo das NSP foi necessário fazer uma filtração simples com algodão de vidro quando transferida para o tubo de RMN devido à presença de pequenas partículas em suspensão. Inicialmente, a amostra 25B-NBOMe foi preparada em D<sub>2</sub>O e DCl (<sup>2</sup>HCl), porém, permaneceu insolúvel após 24 horas. Essa amostra foi preparada novamente em CDCl<sub>3</sub>, sendo totalmente solúvel.

Para a identificação de íons cloreto, foi feito o teste de cloreto para as amostras da UNODC, o qual foi colocado uma quantidade arbitrária de amostra em um tubo de ensaio e adicionado aproximadamente 1 mL de água destilada, juntamente com duas gotas de ácido nítrico 5 mol/L. Ao sobrenadante foram adicionadas mais duas gotas de nitrato de prata 1% e observado o resultado. Para conferência, um branco também foi preparado nas mesmas condições, sem a adição da amostra. O resultado positivo consiste em uma solução turva, o que informa que a amostra está na forma de sal cloridrato. Mas é válido dizer que, para comparação de resultados (já que os resultados fornecidos pela UNODC são dados na forma de base livre), os cálculos foram feitos utilizando a massa molar na forma de base livre para todas as amostras. Para o grupo das NSP, foi possível observar a forma em que se encontravam a partir da análise de infravermelho realizada no SEPLAB/INC pelos peritos responsáveis. Essa análise era feita a partir da comparação no espectro obtido para a amostra com o banco de dados, sendo a maioria na forma de sal cloridrato, com exceção do 4-HO-MiPT, que foi encontrado como fumarato.

As amostras foram mantidas em temperatura ambiente por no máximo dois dias para a realização das análises, com o objetivo de manter as propriedades da solução.

#### 4.1.2 Preparo das amostras de controle

A cada análise, foram preparadas amostras de controle, onde foram pesados em um *ependorff* dois padrões, AM e DMS, com massa de aproximadamente 10 mg de cada um e solubilizados em 0,7 mL de D<sub>2</sub>O. Para melhor homogeneização, foram agitadas no vortex por 1 minuto. Essas soluções foram preparadas para duas funções: 1) para o método de referência externa e, 2) para verificar a calibração do equipamento, já que ambas são materiais de referência e possuem certificados com informações importantes como a pureza.

#### 4.1.3 Parâmetros de aquisição

Os espectros foram adquiridos no equipamento de ressonância magnética nuclear Bruker Avance III HD, operando em campo magnético de 14 T e à frequência de <sup>1</sup>H de 600 MHz e equipado com sonda *broadband* (BBFO) de 5 mm, instalado no laboratório de RMN, no Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília. Inicialmente, foram definidos alguns parâmetros de aquisição que poderiam influenciar na análise quantitativa por RMN.

Para cada amostra, foram feitos os procedimentos de *lock* e *shimming* automaticamente. Os procedimentos de *tuning* e *matching*, responsáveis pela sintonia do núcleo, foram ajustados de forma manual. O pulso de 90° (P90) foi calibrado automaticamente pelo comando *pulsecal*. Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H foram adquiridos com desacoplamento de <sup>13</sup>C (*zgig30*). A tabela abaixo mostra os parâmetros de aquisição utilizados para as amostras, lembrando que, para espectros quantitativos, é necessário obedecer a condição  $D1 + AQ = 5T_1$ .

**Tabela 2** Parâmetros que são ajustados e utilizados a cada ensaio de  $^1\text{H}$  RMN.

Parâmetro	Valor utilizado
Potência 13C PLW2	0 W
Potência 13C PLW12	0,4 W
Ângulo do pulso	30°
D1 ( <i>Delay de relaxação</i> )	15 s
DS ( <i>Dummy scans</i> )	4
NS (Número de scans)	16
TD (Número de pontos)	64k
Largura da janela (SW)	20 ppm
RG (Ganho do detector)	32
Temperatura	25 °C
<i>Spinner</i>	desligado
T <sub>1</sub> mais longo - AM	6,4 s

O tempo T<sub>1</sub> foi calculado a partir do experimento de inversão e recuperação. O maior valor de T<sub>1</sub> calculado foi de 6,4 s, referente ao padrão interno AM (tabela 2). Assim, o cálculo do 5T<sub>1</sub> foi baseado no tempo T<sub>1</sub> de 6,4 s, tendo como resultado um tempo igual a aproximadamente 30 s. Porém, esse cálculo se refere a um pulso de 90°, como o pulso utilizado foi o pulso de 30°, o valor pode ser calculado proporcionalmente, sendo o tempo D1 igual a 15 segundos.

Para a análise de  $^{13}\text{C}$  MAS RMN foram utilizados os parâmetros baseados no artigo de Maheux et al.(2016)<sup>34</sup> que estão dispostos na tabela abaixo (Tabela 3).

**Tabela 3** Parâmetros que são ajustados e utilizados no ensaio de  $^{13}\text{C}$  MAS RMN.

Parâmetro	Valor utilizado
Rotor	4 mm
<i>spinning</i>	10 kHz
Tempo de pulso 90°	2,5 µs
Tempo de contato	2 ms
Recycle Delay	4 s
Tempo de aquisição	32,6 ms
Número de Scans (NS)	512 scans

## 4.2 Análise por Difração de Raio-X

O equipamento utilizado na análise foi o Difratorômetro de Raio X de pó da marca Bruker modelo D8 FOCUS. Para a análise, a amostra teve de ser macerada a partir de almofariz e pistilo para deixá-la o mais homogênea possível e em seguida, já pulverizada, transferida para o porta-amostra de aproximadamente 5 cm. O empacotamento da amostra foi feito com o auxílio de uma lâmina de acrílico para pressionar o pó sobre o espaço disponível no porta-amostra até que ela ficasse firme.

Os parâmetros empregados no experimento de Difração de Raio-X (DRX) foram baseados no artigo de Maheux et al. (2016)<sup>34</sup> onde a potência utilizada foi de 45kV e uma corrente de 40 mA, *step size* de 0,017°, *scan rate* 0,1°/s e uma faixa angular  $2\theta$  de 5° – 70°.

## 4.3 Processamento dos dados

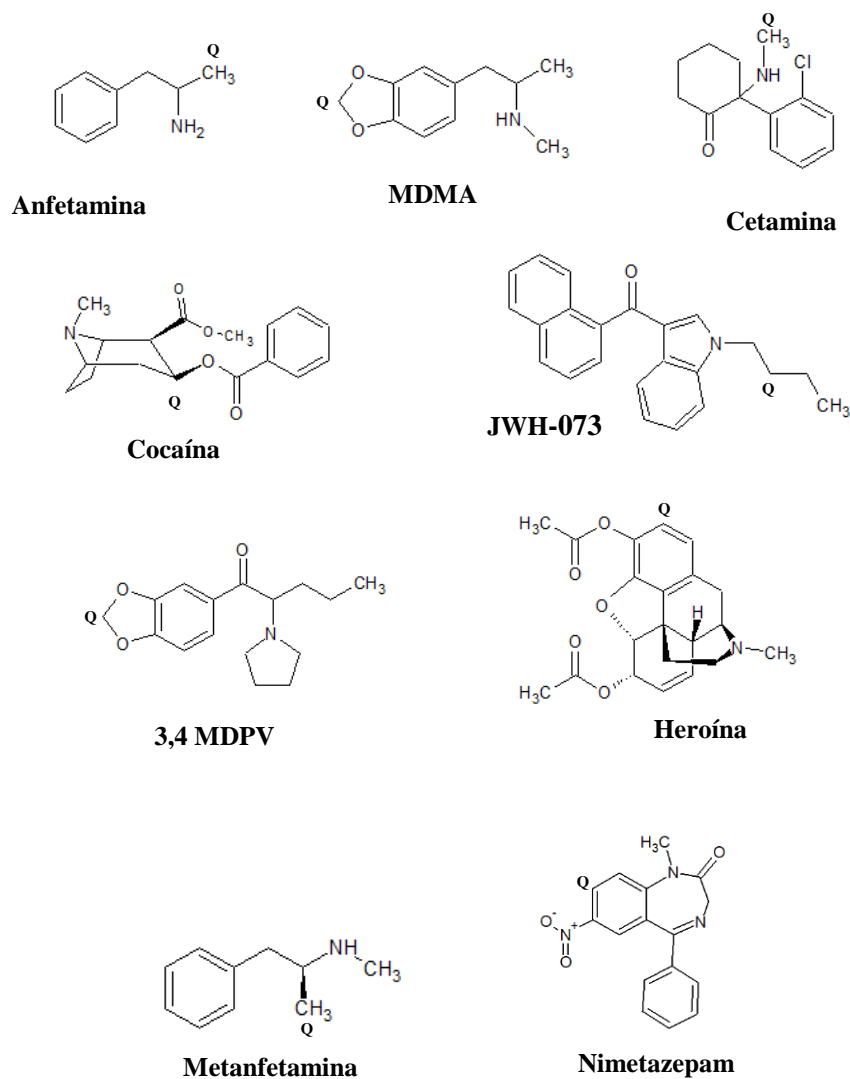
Os dados espectrais foram processados no programa TopSpin Bruker® e ACD/NMR, aplicando Transformada de Fourier (FT) ao FID obtido. Os espectros foram referenciados a partir do sinal do TMS ou TSP que possuem deslocamento químico em 0,0 ppm. O ajuste de fase de ordem zero e de primeira ordem (phc0 e phc1) foi realizado de forma manual. A correção da linha de base foi realizada de forma automática a partir de equação polinomial (Polinômio de Bernstein). Não foi aplicada nenhuma função janela e a integração dos sinais foi realizada de forma manual.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Quantificação das amostras dos exercícios da UNODC por RMN de $^1\text{H}$

Todo ano, o laboratório de química forense do SEPLAB/INC da Polícia Federal recebe amostras dos exercícios da UNODC. Essas amostras devem ser identificadas por técnicas espectrométricas como infravermelho, cromatografia, espectrometria de massas, técnicas comumente encontradas em laboratórios de química forense, e devem ser quantificadas. Na maioria das vezes, é utilizada a cromatografia gasosa como técnica quantitativa, método simples, mas a aquisição dos dados pode ser demorada, além de ser necessária a utilização de materiais de referência para a construção de curva analítica. À vista disso, a RMNq é mais uma ferramenta promissora para atestar e confirmar os resultados obtidos nas demais técnicas, além de facilitar o procedimento para a construção de curvas analíticas em análises posteriores nos métodos de quantificação tradicionais.

As amostras dos exercícios da UNODC foram agrupadas de acordo com o ano e semestre de exercício, começando no segundo semestre de 2015 e finalizando no primeiro semestre de 2017. As estruturas dessas amostras foram identificadas, inicialmente, por infravermelho e espectrometria de massa, que são análises de rotina do SEPLAB/INC realizadas pelos peritos responsáveis. A quantificação destas foi feita a partir do CG-MS por curva de calibração, dessa forma, os resultados obtidos foram comparados com os realizados por RMNq de  $^1\text{H}$ . A confirmação das estruturas de cada amostra, apresentadas na Figura 8, foi realizada pela análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Anexos A a E).



**Figura 8.** Estruturas moleculares das amostras referentes aos exercícios da UNODOC. A letra Q indica os <sup>1</sup>H cujos sinais foram selecionados para realizar a quantificação.

Para as análises de RMNq, foram utilizados sinais com atribuição conhecida, observados em regiões desimpedidas (isoladas) e que não apresentam sobreposição com sinais de interferentes e adulterantes. Isso faz com que não haja um aumento da incerteza da área absoluta dos sinais quantificados, que é de extrema importância para o cálculo de pureza a partir da Equação 7 (página 9). De maneira geral, os sinais dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H que foram selecionados para a quantificação do analito são os sinais referentes a metilas e metilenos em que as regiões são livres de interferentes. A tabela 4 reúne as informações dos deslocamentos químicos dos sinais utilizados para quantificação de cada analito e a multiplicidade referente a estes sinais, cuja atribuição está indicada na figura 8.



**Tabela 4** Tabela de atribuição dos sinais quantificados.

<b>Ano exercício</b>	<b>Amostras</b>	<b>Sinal Quantificado</b>	<b>Multiplicidade</b>
<b>2/2015</b>	Nimetazepam*	8,75 ppm	duplo duplete
	Cetamina	2,42 ppm	simpleto
	Anfetamina	1,27 ppm	duplete
<b>1/2016</b>	Cocaína	5,58 ppm	quarteto
	MDMA	5,96 ppm	simpleto
	Anfetamina	1,31 ppm	duplete
<b>2/2016</b>	Cocaína	5,59 ppm	quarteto
	JWH-073	1,79 ppm	quinteto
	Cetamina	2,42 ppm	simpleto
	Heroína	6,97 ppm	simpleto
<b>1/2017</b>	MDPV	6,13 ppm	duplo duplete
	Cocaína	5,60 ppm	quarteto
	MDMA	5,97 ppm	simpleto
<b>2/2017</b>	MDPV	6,13 ppm	duplo duplete
	Anfetamina	1,30 ppm	duplete
	Metanfetamina	1,27 ppm	duplete

\* Amostra realizada em duplicata

Para estas amostras, não foram realizados experimentos adicionais como espectros monodimensionais de  $^{13}\text{C}$  e experimentos bidimensionais, visto que o principal objetivo era a quantificação. Como descrito anteriormente, a identificação inicial das amostras foi feita por infravermelho e cromatografia gasosa. Os espectros  $^1\text{H}$  apenas confirmaram a identificação já realizada, por meio da comparação com espectros destas substâncias encontrados na literatura.

A tabela 5 apresenta as informações relativas ao ano de exercício da UNODC, substâncias analisadas, bem como os resultados obtidos de pureza, Coeficiente de Variação (CV %) e a massa média de cada amostra pela quantificação por RMN de  $^1\text{H}$ .

**Tabela 5** Purezas amostras da UNODC obtidas pelas análises de RMNq de <sup>1</sup>H.

Semestre/Ano	Amostras	Pureza média (%)	CV (%)	Massa média (mg)
2/2015	Nimetazepam*	3,71	0,30	11,15
2/2015	Cetamina	8,89	0,33	10,38
2/2015	Anfetamina	21,81	0,73	10,58
1/2016	Cocaína	52,01	0,60	10,59
1/2016	MDMA	13,39	0,69	10,84
1/2016	Anfetamina	5,50	1,75	10,69
2/2016	Cocaína	79,70	0,00	10,92
2/2016	JWH-073	14,33	0,33	10,31
2/2016	Cetamina	10,45	0,33	10,53
2/2016	Heroína	24,93	1,60	11,25
1/2017	MDPV	45,01	0,80	10,32
1/2017	Cocaína	26,45	0,35	10,74
1/2017	MDMA	54,91	0,55	10,31
2/2017	MDPV	31,39	0,97	10,74
2/2017	Anfetamina	5,70	0,43	10,67
2/2017	Metanfetamina	39,20	0,08	10,65

\* Análise realizada em duplicata

A partir da análise dos resultados, é possível indicar uma ótima precisão no método utilizado, visto que todos os coeficientes de variação se encontram abaixo de 2%. Tendo como referência o Procedimento Operacional Padrão (POP) do SEPLAB/INC, o valor de aceitação de CV (%) deve ser igual ou inferior a 10%.

A comparação dos valores de pureza obtidos experimentalmente com a pureza indicada pela UNODC para cada amostra está apresentada na Tabela 6. Os valores de erro relativo negativos indicam que os dados de pureza obtidos foram menores do que os indicados pela UNODC enquanto que os valores de erro relativo positivos indicam que a pureza obtida foi maior do que os valores indicados pela UNODC.

**Tabela 6** Valores de pureza experimental comparados às purezas determinadas pela UNODC e seus respectivos erros relativos em porcentagem.

Semestre/ Ano	Amostras	Pureza média experimental	Pureza média UNODC	Erro Relativo (%)
2/2015	Nimetazepam	3,71	3,70	0,30
2/2015	Cetamina	8,89	11,90	-25,27
2/2015	Anfetamina	21,81	23,90	-8,73
1/2016	Cocaína	52,01	51,70	0,59
1/2016	MDMA	13,39	13,80	-2,96
1/2016	Anfetamina	5,50	5,50	0,06
2/2016	Cocaína	79,70	77,30	3,10
2/2016	JWH-073	14,33	13,20	8,56
2/2016	Cetamina	10,45	10,50	-0,46
2/2016	Heroína	24,93	25,90	-3,74
1/2017	MDPV	45,01	45,30	-0,63
1/2017	Cocaína	26,45	25,10	5,37
1/2017	MDMA	54,91	56,00	-1,94
2/2017	MDPV	31,39	31,30	0,29
2/2017	Anfetamina	5,70	5,60	1,84
2/2017	Metanfetamina	39,20	39,90	-1,74

Nota-se que a maior parte dos erros relativos está com valor abaixo de 9,0 %, resultado bastante satisfatório para a pesquisa, de acordo com o POP do SEPLAB/INC, mencionado acima. Salvo a amostra Cetamina do exercício de 2/2015, cujo erro relativo é igual a 25,27% e, portanto, um valor acima do erro máximo permitido (10%), o mesmo não pode ser dito como degradação, já que não houve sinais do(s) possível(eis) produto(s).

A partir do teste de *Student* (Teste t) foi possível analisar estatisticamente os dados e declará-los equivalentes ou não. A partir do teste t pareado, em que são analisados dois conjuntos de dados, sendo um referente ao método utilizado e outro ao método dito como aceito ou referência<sup>35</sup>. Na tabela 7, estão contidos os dados utilizados no cálculo, no qual é obtido o resultado a partir da diferença entre cada medida pareada de cada amostra. Sendo  $D_i$  a diferença individual dos valores obtidos pelo método analisado e o método considerado como referência,  $\bar{D}$  é a média da diferença dos valores individuais  $D_i$  e  $N$  o número de repetições. Para os dados expostos na tabela 7,  $\bar{D}$  tem um valor igual a -0,20 e a somatória dos valores  $D_i$  e  $(D_i - \bar{D})^2$ , -3,22 e 24,63, respectivamente. Para o cálculo do t crítico foi seguida a equação 11.

$$t = \frac{\bar{D}}{S_d} \sqrt{N} \quad (\text{Eq. 11})$$

Onde  $S_d$  é tido como o desvio padrão dos resultados obtidos pelo método utilizado e o de referência e pode ser calculado a partir da equação 12.

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum (D_i - \bar{D})^2}{N-1}} \quad (\text{Eq. 12})$$

**Tabela 7** Dados utilizados no cálculo do teste t pareado.

	Amostras	Método realizado	Método de referência (UNODC)	$D_i$	$D_i - \bar{D}$	$(D_i - \bar{D})^2$
2/2015	Nimetazepam	3,71	3,70	0,01	0,21	0,04
2/2015	Cetamina	8,89	11,90	-3,01	-2,81	7,89
2/2015	Anfetamina	21,81	23,90	-2,09	-1,89	3,57
1/2016	Cocaína	52,01	51,70	0,31	0,51	0,26
1/2016	MDMA	13,39	13,80	-0,41	-0,21	0,04
1/2016	Anfetamina	5,50	5,50	0,00	0,20	0,04
2/2016	Cocaína	79,70	77,30	2,40	2,60	6,77
2/2016	JWH-073	14,33	13,20	1,13	1,33	1,77
2/2016	Cetamina	10,45	10,50	-0,05	0,15	0,02
2/2016	Heroína	24,93	25,90	-0,97	-0,77	0,59
1/2027	MDPV	45,01	45,30	-0,29	-0,09	0,01
1/2017	Cocaína	26,45	25,10	1,35	1,55	2,41
1/2017	MDMA	54,91	56,00	-1,09	-0,89	0,79
2/2017	MDPV	31,39	31,30	0,09	0,29	0,08
2/2017	Anfetamina	5,70	5,60	0,10	0,30	0,09
2/2017	Metanfetamina	39,20	39,90	-0,70	-0,50	0,25

A partir das equações, Eq. 11 e 12, que definem o valor de t calculado, o valor obtido foi igual a 0,63. Sabendo que para 15 graus de liberdade (N-1) a um nível de confiança de 95%, o valor de t tabelado é igual a 2,13, dessa forma, é possível observar que  $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$  e assim, a hipótese nula ( $H_0: \mu = 0$ ) é aceita, não havendo diferença significativa entre os dois métodos a esse nível de confiança.

Os limites de quantificação e detecção foram calculados para cada amostra assim como para as amostras de NSP mostradas adiante. A relação sinal/ruído (S/R) é um importante critério para a avaliação da precisão na integração do sinal, pois a mesma fornece informações sobre a sensibilidade do equipamento. Ou seja, se for obtida uma alta relação S/R é dito que o instrumento é mais sensível, isto é, é capaz de diferenciar o

sinal da amostra do ruído do equipamento. Essa relação aumenta com a raiz quadrada do número de scans, assim, se deseja-se aumentar a sensibilidade em duas vezes, deve-se aumentar o número de scans quatro vezes. A relação S/R foi obtida por meio do software TopSpin 3.2 Bruker, o qual é feito automaticamente a partir da seleção manual da região de ruído e do sinal quantificado. Os limites de detecção e quantificação foram definidos a partir da relação S/R definidas como 10 e 30, respectivamente, a partir do trabalho de Almeida (2016)<sup>22</sup>. Esses valores foram determinados como sendo limites em que as suas estimativas são satisfatórias e, com a finalidade de diminuir os efeitos da baixa relação na incerteza do método. Além de também envolver a massa de analito pesada e pureza para o cálculo destes. Os valores de limites de detecção e quantificação obtidos estão apresentados na tabela 8 abaixo.

**Tabela 8** Valores obtidos para os limites de detecção e quantificação para as amostras do programa ICE – UNODC.

	<b>Amostras UNODC</b>	<b>Limite de Detecção (mg/mL)</b>	<b>Limite de Quantificação (mg/mL)</b>	<b>Relação Sinal/Ruído</b>
<b>2/2015</b>	<b>Nimetazepam</b>	0,19	0,56	28,90
	<b>Cetamina</b>	0,01	0,04	1065,06
	<b>Anfetamina</b>	0,01	0,04	2475,89
<b>1/2016</b>	<b>Cocaína</b>	0,27	0,79	295,59
	<b>MDMA</b>	0,01	0,03	1966,27
	<b>Anfetamina</b>	0,01	0,04	635,45
<b>2/2016</b>	<b>Cocaína</b>	1,23	0,79	462,75
	<b>JWH-073</b>	0,16	0,49	143,80
	<b>Cetamina</b>	0,01	0,04	1196,85
	<b>Heroína</b>	0,13	0,38	313,34
<b>1/2017</b>	<b>MDPV</b>	0,05	0,14	1366,80
	<b>Cocaína</b>	0,27	0,79	150,85
	<b>MDMA</b>	0,01	0,04	5822,86
<b>2/2017</b>	<b>MDPV</b>	0,04	0,13	1070,20
	<b>Anfetamina</b>	0,02	0,05	519,42
	<b>Metanfetamina</b>	0,02	0,05	3899,81

Os maiores valores para o limite de quantificação são os relativos à substância cocaína, onde foi utilizado para a quantificação um sinal equivalente a um hidrogênio com multiplicidade igual a um quarteto, dessa forma, como a área está distribuída entre os quatro picos constituintes do quarteto, a relação sinal/ruído será menor e,

consequentemente, o erro na integração e o limite serão maiores. Os limites expressos em mg/mL representam a concentração mínima do analito para ser detectado e quantificado.

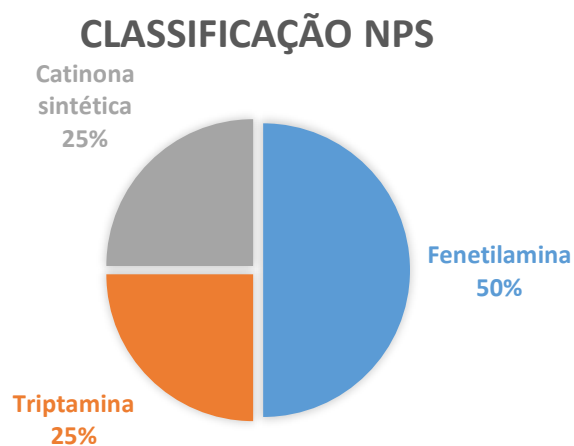
#### 4.2. Quantificação de NSP por RMN de $^1\text{H}$

A partir das análises das amostras da UNODC, e, observando os ótimos resultados obtidos, o trabalho foi expandido para as amostras de NPSs. Como existem diversas substâncias com matrizes muito distintas entre si e, não possuem padrões de referência para comparação, acabam tornando-se um grande desafio.

As amostras de NSP foram apreendidas na forma de comprimido e pó em uma operação ainda em andamento, iniciada no ano de 2015, no nordeste do Brasil. As amostras apreendidas fazem parte das classes catinonas sintéticas, fenetilaminas e triptamina. A caracterização e quantificação das NSP são importantes para a Polícia Federal, uma vez que podem auxiliar em investigações de rota de tráfico e de identificação de fornecedores.

As NSP podem ser encontradas na presença de matrizes distintas entre si, o que gera um desafio maior quanto à caracterização e quantificação dessas substâncias. Além disso, muitas das amostras analisadas possuem isômeros, o que reforça a importância de se confirmar a estrutura pelas análises de RMN. Nesse trabalho, foram analisadas dezessete amostras de NSP e os experimentos de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  -DEPT-135,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC e  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY foram realizados para se confirmar a estrutura das amostras analisadas e para selecionar os sinais utilizados na quantificação.

Como mostra a figura 9, as fenetilaminas lideram o número de apreensões entre as amostras que foram analisadas. Esse resultado já era esperado, pois, como mencionado na seção 1.3, essa é a classe de substâncias mais apreendida no Brasil nos últimos anos. Já as catinonas sintéticas, como a Etilona, e as triptaminas, como 4-HO-MiPT, estão em igual quantidade.



**Figura 9** Relação de amostras analisadas de acordo com as classificações das NSP apreendidas (Fenetilaminas, Triptaminas e Catinonas sintéticas).

A pureza das NPS, bem como os valores de CV, obtidos pelas análises de RMNq de  $^1\text{H}$  estão apresentadas na tabela 9. Os resultados mostram que todas as análises realizadas possuem um CV dentro da margem de aceitação (10%). A amostra 5-MeO-MiPT possui o maior CV de 2,67%, que ao se comparar com os outros resultados, como o da amostra 5-MAPB que apresenta CV de 0,09%, foi um resultado relativamente alto.

**Tabela 9** Valores de purezas das NPS, coeficientes de variação, massa média utilizada e sinais utilizados na quantificação.

<b>Amostras</b>	<b>Pureza média (%)</b>	<b>CV (%)</b>	<b>Massa média (mg)</b>	<b>Sinal quantificado</b>
2-FA	83,61	1,07	10,53	3,00 ppm – CH <sub>2</sub>
4-FA	99,59	1,13	10,54	2,93 ppm – CH <sub>2</sub>
2-MAPB	97,28	1,22	10,59	6,77 ppm - CH
5-MAPB 1	95,16	1,07	10,75	7,25 ppm – CH
5-MAPB 2	95,16	0,21	10,87	7,25 ppm - CH
4-HO-MiPT	87,78	0,62	10,46	2,84 ppm - CH <sub>3</sub>
4-CMC	99,37	1,15	10,53	1,62 ppm - CH <sub>3</sub>
DOC	97,77	2,11	11,02	2,90 ppm - CH <sub>2</sub>
25B-NBOMe	99,8	1,83	10,27	3,24 ppm - CH <sub>2</sub>
4-FMC	98,94	0,79	10,65	1,62 ppm - CH <sub>3</sub>
5-MeO-MiPT	96,86	2,67	10,87	2,80 ppm - CH <sub>3</sub>
5-MeO-MiPT+Etilona	98,68	1,35	10,44	2,80 ppm - CH <sub>3</sub>
Etilona	99,51	0,32	10,74	6,13 ppm - CH <sub>2</sub>
4-CMC*	92,76	0,44	10,59	1,62 ppm - CH <sub>3</sub>
Etilfenidato	99,98	1,26	10,59	1,17 ppm - CH <sub>3</sub>
4-HO-MiPT*	87,42	0,98	10,72	2,84 ppm - CH <sub>3</sub>

\*Substâncias referentes a lotes distintos

A partir do teste de estabilidade foi possível concluir que as amostras analisadas se mostraram estáveis dentro de um período de 48 horas, com exceção da amostra 25B-NBOMe, a qual se manteve estável por 24 horas (Tabela 10).



**Tabela 10** Tabela de estabilidade com valores de pureza calculado no período de 48 horas e respectivos desvios padrão

<b>Amostra</b>	<b>Estabilidade</b>	<b>Pureza média (%)</b>	<b>Desvio padrão (s)</b>
<b>2-FA</b>	0h	83,91	0,022
	24h	83,90	
	48h	83,95	
<b>4-FA</b>	0h	99,77	0,078
	24h	99,68	
	48h	99,58	
<b>2-MAPB</b>	0h	96,36	0,096
	24h	96,58	
	48h	96,54	
<b>5-MAPB</b>	0h	97,60	0,48
	24h	96,53	
	48h	96,61	
<b>4-HO-MiPT (MeOD)</b>	0h	87,35	0,55
	24h	87,95	
	48h	88,70	
<b>DOC</b>	0h	94,37	0,11
	24h	94,61	
	48h	94,59	
<b>25B-NBOMe</b>	0h	99,80	0,30
	24h	99,19	
	48h	-	
<b>4-FMC</b>	0h	100,10	0,22
	24h	99,97	
	48h	100,49	
<b>5-MeO-MiPT</b>	0h	96,59	0,39
	24h	95,88	
	48h	95,68	
<b>4-CMC</b>	0h	92,14	0,34
	24h	91,32	
	48h	91,72	
<b>Etilfenidato</b>	0h	99,92	0,36
	24h	100,48	
	48h	99,61	
<b>Etilona</b>	0h	99,04	0,25
	24h	99,56	
	48h	99,02	

Além da estabilidade, os valores dos limites de detecção e quantificação estão expressos na tabela 11 abaixo.

**Tabela 11** Valores dos limites de detecção e quantificação para as amostras de NSP.

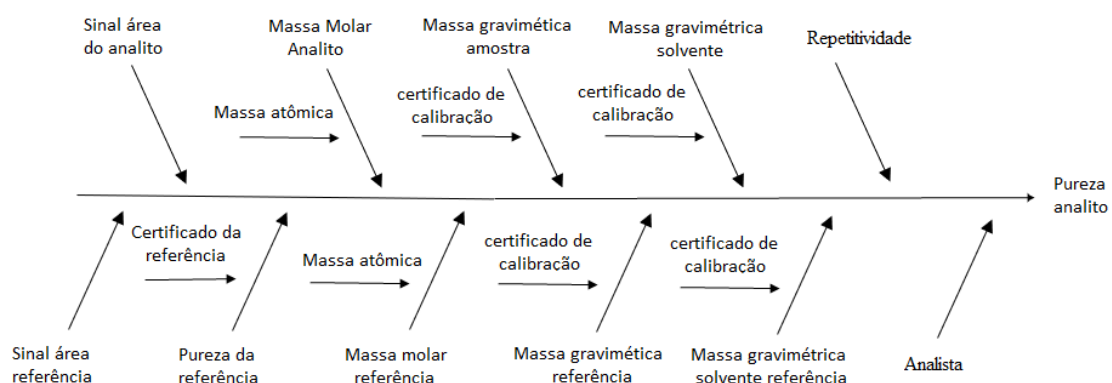
<b>Amostras NSP</b>	<b>Limite de Detecção (mg/ml)</b>	<b>Limite de Quantificação (mg/ml)</b>	<b>Relação Sinal/Ruído</b>
<b>2-FA</b>	0,02	0,07	5402,70
<b>4-FA</b>	0,02	0,06	7503,32
<b>2-MAPB</b>	0,03	0,08	5223,45
<b>5-MAPB - 1</b>	0,03	0,08	5737,22
<b>5-MAPB - 2</b>	0,03	0,09	5032,69
<b>4-HO-MiPT</b>	0,02	0,01	10507,68
<b>4-CMC</b>	0,02	0,07	6422,56
<b>DOC</b>	0,07	0,21	2120,89
<b>25B-NBOMe</b>	0,16	0,47	4301,35
<b>4-FMC</b>	0,02	0,07	6001,47
<b>5-MeO-MiPT</b>	0,02	0,05	8371,91
<b>5-MeO-MiPT+Etilona</b>	0,02	0,05	9129,54
<b>Etilona</b>	0,05	0,15	3073,34
<b>4-CMC*</b>	0,02	0,06	6495,03
<b>Etilfenidato</b>	0,02	0,06	7121,79
<b>4-HO-MiPT</b>	0,01	0,03	7438,15

O maior valor de limite de quantificação é relativo à substância 25B-NBOMe. Para a quantificação dessa substância, foi utilizado um sinal com multiplicidade igual a um tripleto e integral referente a 2 hidrogênios. Assim, como já mencionado no caso das amostras do exercício da UNODC, a área está distribuída entre os três picos do tripleto, então, a relação sinal/ruído será menor e, conseqüentemente, o erro na integração e o limite serão maiores

A fim de avaliar a seletividade nas amostras, foram analisadas as amostras solubilizadas em água juntamente com os possíveis adulterantes encontrados sendo eles cafeína, procaína, sacarose e aminopirina. Os espectros estão dispostos no anexo I, onde é possível confirmar a seletividade para todas as amostras a partir da não sobreposição dos sinais referentes aos adulterantes e o sinal utilizado para a quantificação, o que garante que o sinal integrado é relativo somente ao analito.

### 5.3 Incerteza do método

A incerteza foi calculada a partir das amostras de controle (amostra de AM e DMS em D<sub>2</sub>O) para verificar a resposta do método, já que os mesmos parâmetros de aquisição são aplicados a essas amostras. Para melhor precisão dos valores, foram utilizados um total de seis soluções de controle e calculado as incertezas padrão individuais de cada fonte de incerteza. A partir do diagrama de Ishikawa é possível identificar tais fatores contribuintes para a incerteza na medida<sup>36</sup> (Figura 10)



**Figura 10** Diagrama de Ishikawa fundamentado na equação 6 para determinar as fontes de incertezas.

A tabela 12 contém informações sobre as purezas calculadas de cada controle realizado, bem como a média dos valores obtidos, desvio padrão e CV. A partir dos resultados, pôde-se observar que o desvio padrão e o CV apresentam valores altos de aproximadamente 2,00, isso pode ser atribuído ao fato de ter sido encontrado um valor anômalo em relação aos demais. O controle 6 possui um valor de pureza igual a 104,70%, valor este muito distinto dos demais. Por esse motivo, foi realizado um Teste Q (Teste de Dixon) para avaliar se este valor é um *outlier*, visto que o teste rejeita valores com base na amplitude das medidas<sup>34</sup>. Será rejeitado o valor que possuir o  $Q_{\text{calculado}}$  (calculado a partir da equação 8) maior que o  $Q_{\text{crítico}}$  a um nível de 95% e total de observações igual a 6 ( $Q_{\text{crítico } 95\%} = 0,625$ ).

$$Q = \frac{|\text{Valor suspeito} - \text{Valor mais próximo}|}{|\text{Maior valor} - \text{Menos valor}|} \quad (\text{Eq. 8})$$

**Tabela 12** Valores de pureza de cada amostra controle para o DMS, pureza média, desvio padrão e coeficiente de variação.

<b>Controles</b>	<b>Purezas</b>
<b>Controle 1</b>	98,88
<b>Controle 2</b>	99,19
<b>Controle 3</b>	99,27
<b>Controle 4</b>	99,70
<b>Controle 5</b>	100,24
<b>Controle 6</b>	104,70
<b>Média</b>	100,33
<b>s</b>	2,00
<b>CV (%)</b>	1,99

Dessa maneira, foi encontrado um valor para  $Q_{\text{calculado}}$  igual a 0,766. Assim,  $Q_{\text{calculado}} = 0,766 > Q_{\text{crítico}} = 0,625$ , logo, o valor suspeito deve ser rejeitado e a tabela 13 indica os novos resultados para a média, desvio padrão e CV, sendo os dois últimos apresentando valores muito inferiores aos resultados antes da rejeição.

**Tabela 13** Valores de pureza de cada amostra controle para o DMS, pureza média, desvio padrão e coeficiente de variação após teste Q.

<b>Controles</b>	<b>Purezas</b>
<b>Controle 1</b>	98,88
<b>Controle 2</b>	99,19
<b>Controle 3</b>	99,27
<b>Controle 4</b>	99,70
<b>Controle 5</b>	100,24
<b>Média</b>	99,46
<b>s</b>	0,24
<b>CV (%)</b>	0,24

Para a avaliação da incerteza expandida ( $U(x)$ ), foram calculados separadamente as incertezas padrão associadas e suas contribuições (Tabela 14), excluindo o valor rejeitado pelo teste. As incertezas estão na sua forma expandidas ( $U(x)$ ) e, por isso, devem ser divididas por um fator de abrangência  $k$ , para serem obtidas as incertezas padrão ( $u(x)$ )<sup>36</sup>. Desta maneira, percebe-se que a maior contribuição é da repetitividade, que está relacionada com o preparo de amostra, a quantidade de replicatas e suas respectivas

purezas calculadas (no caso, 6) com contribuição de 87,68%. Outro fator que é relevante é a incerteza na medida das massas gravimétricas atribuída à incerteza da balança e a pureza da referência, com contribuição de 3,97%. Os demais fatores possuem baixa contribuição, sendo muito pouco significantes para a incerteza expandida ( $U(x)$ ) da medida.

**Tabela 14** Tabela de incertezas de cada fator e suas respectivas contribuições para a incerteza da medida.

AM/DMS	Incerteza expandida ( $U(x)$ )	Divisor (k)	Incerteza Padrão ( $u(x)$ )	Contribuição (%)
Média massa analito	0,010	2,00	0,0050	3,97
Média massa padrão	0,010	2,00	0,0050	3,98
Massa Molar analito	0,020	1,73	0,012	0,29
Massa Molar padrão	0,0050	1,73	0,0030	0,01
Pureza padrão	0,00090	2,00	0,00045	3,97
Área	0,00065	2,45	0,00027	0,10
Repetitividade	0,47	2,24	0,21	87,68

A Equação 9 é utilizada para o cálculo da incerteza padrão combinada ( $\mu$ ), descrita como a raiz da soma dos quadrados das incertezas padrão ( $u(x)$ ) de cada fator, que é baseada no artigo de Malz (2005)<sup>8</sup>.

$$\mu(P_x) = P_x \sqrt{\left(\frac{u(I_x/I_{Ref})}{I_x/I_{Ref}}\right)^2 + \left(\frac{u(M_x)}{M_x}\right)^2 + \left(\frac{u(M_{Ref})}{M_{Ref}}\right)^2 + \left(\frac{u(m_x)}{m_x}\right)^2 + \left(\frac{u(m_{Ref})}{m_{Ref}}\right)^2 + \left(\frac{u(P_{Ref})}{P_{Ref}}\right)^2} \quad (\text{Eq. 9})$$

onde, o primeiro termo,  $I_x/I_{ref}$ , é relacionado à razão das áreas relativas da amostra (x) e da referência (ref), seguindo por M referente a massa molar de seus respectivos, massa gravimétrica (m) e pureza certificada da referência ( $P_{ref}$ ), tabela 15.

**Tabela 15** Incertezas e siglas utilizadas para os termos contidos na Equação 8.

Incertezas	Sigla
razão da média das áreas relativas	$u(I_x/I_{ref})$
Massa molar da amostra	$u(M_x)$
Massa molar da referência	$u(M_{ref})$
Massa gravimétrica da amostra	$u(m_x)$
Massa gravimétrica da referência	$u(m_{ref})$
Pureza da referência	$u(P_{ref})$

A incerteza ( $U(x)$ ) relacionada às massas gravimétricas do analito e da referência foi adquirida a partir do certificado de calibração da balança, assim como a incerteza da pureza da referência foi obtida a partir do certificado do padrão. A massa molar foi calculada pelo programa Molar Mass Calculator® a partir da incerteza das massas atômicas. A incerteza individual da área foi calculada a partir do desvio padrão da razão da área do analito e da área da referência, e da repetitividade, o desvio das purezas calculadas.

Sabendo de todas as incertezas associadas individuais e seus respectivos valores ( $x$ ), de acordo com a Equação 10, é facilmente encontrada a incerteza padrão combinada simbolizada por  $\mu$ . Para determinar a incerteza do método é necessário calcular a incerteza expandida ( $U(x)$ ), que envolve a incerteza padrão combinada ( $\mu$ ), a média da pureza calculada ( $P_x$ ) e o fator de abrangência ( $k=2$ ). Os valores estão apresentados na tabela 16.

$$U(x) = \mu \cdot P_x \cdot K_{95\%} \quad (\text{Eq. 10})$$

**Tabela 16** Valores de incerteza padrão combinada, pureza e fator de abrangência par ao cálculo da incerteza expandida do método.

Incerteza padrão combinada ( $\mu$ )	Média da Pureza (%)	Fator de abrangência ( $k_{95\%}$ )
0,0022	99,46	2,00

Assim, a incerteza expandida ( $U(x)$ ) é igual a 0,44% ( $99,46 \pm 0,44\%$ ), resultado satisfatório e aceitável para ser considerado um método com boa precisão e baixa incerteza nos resultados de acordo com as especificações do POP fornecido pelo SEPLAB/PF.

Para o trabalho, não foi necessário avaliar algumas figuras de mérito como linearidade, robustez e exatidão, pois a validação do método por padrão interno já foi realizada no trabalho de Almeida (2016)<sup>22</sup>, que foi integrante do grupo de LRMN da UnB, logo, foi feita a aplicação do método às amostras trabalhadas. Em seu trabalho, foram validados dois métodos de quantificação, um por GC-FID e outro por <sup>1</sup>H RMN, em que foram avaliadas as figuras de mérito linearidade, precisão, exatidão, robustez, seletividade, limites de detecção e quantificação e estimativa da incerteza da medição.

Com destaque para o desenvolvimento do método de  $^1\text{H}$ -qRMN, foi validado um sistema contendo dois padrões certificados, DMS e AM, e um padrão de MDMA.HCl, o qual foi obtido ótimos resultados. Após a validação do método, a incerteza na medição foi extrapolada para as amostras reais para a quantificação de MDMA em comprimidos de ecstasy. Foram analisados um total de 39 lotes distintos apreendidos entre 2011 e 2013 para o desenvolvimento do trabalho.

## **5.4 Caracterização e identificação de sinais das amostras de NSP**

### **5.4.1 Triptaminas**

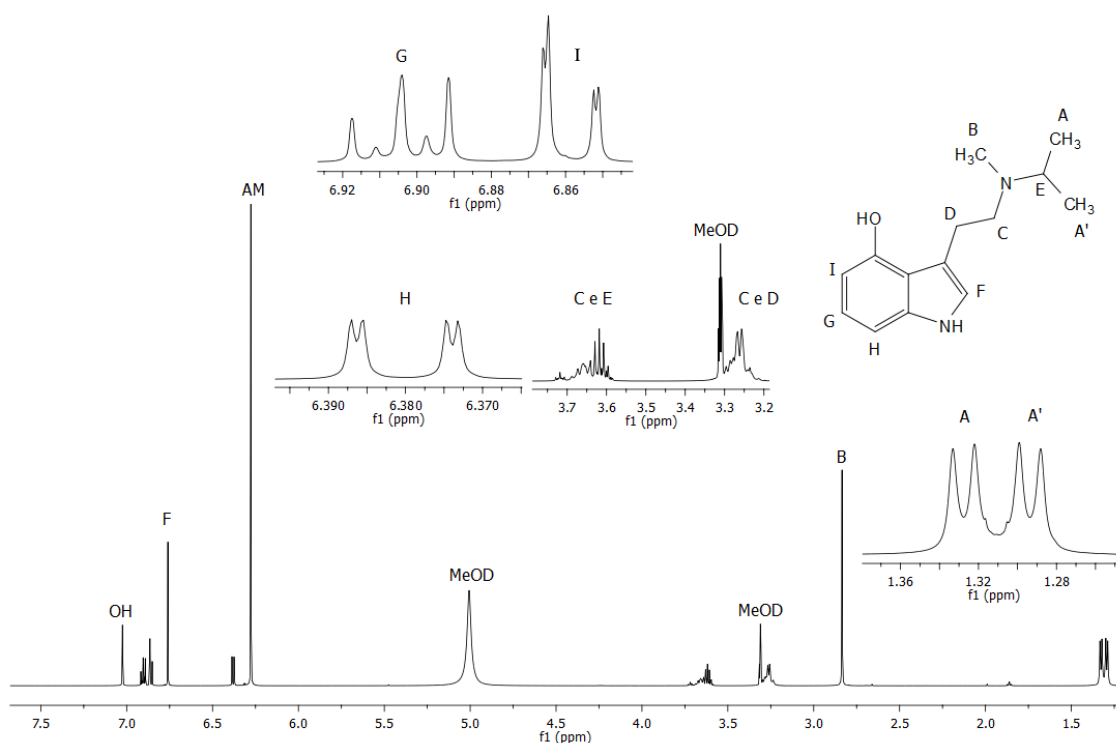
As triptaminas são NSP que possuem um anel indólico e um grupo amina em sua estrutura. Nessa classe de substâncias, foram analisadas as moléculas 4-HO-MiPT e 5-MeO-MiPT. Os espectros de cada uma dessas NSP, bem como a atribuição completa dos sinais estão apresentados no anexo F.

#### **5.4.1.1 4-hidroxi-*N*-metil-*N*-isopropiltriptamina (4-HO-MiPT)**

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da amostra 4-HO-MiPT está apresentado na figura 11. O mesmo foi avaliado quanto a multiplicidade, integral e deslocamento químico e a identificação dos sinais está apresentada no espectro.

A análise do espectro confirma a estrutura da amostra analisada. Os sinais A e A' são dois dupletos (deslocamentos em 1,29 ppm e 1,32 ppm) que, por possuírem deslocamentos químicos muito próximos, se sobrepõe. Estes sinais são referentes às duas metilas ligadas ao carbono E com integral igual a três hidrogênios cada. Dessa forma, cada metila tem como vizinho o hidrogênio E, possuindo multiplicidade resultante igual a um duplete. O sinal B é um simpleto com deslocamento químico em 2,84 ppm referente à metila ligada a amina, que desblinda o sinal que normalmente possuiria deslocamento entre 0,5 a 1,5 ppm. Por não possuir nenhum hidrogênio vizinho, a multiplicidade é explicada. O metileno C possui dois hidrogênios quimicamente distintos que, é causado pelo feito da anisotropia o que resulta em uma preferência conformacional por parte

destes e, por isso, esses hidrogênios assumem não possuem os mesmos deslocamentos químicos, sendo um deles com deslocamento em 3,27 ppm, sobreposto ao hidrogênio do metileno D, e outro com deslocamento em 3,66 ppm.



**Figura 11.** Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 4-HO-MiPT em metanol- $d_4$  (MeOD) e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.

O hidrogênio definido como E na estrutura da figura 11 possui sinal sobreposto com um dos hidrogênios C. Este sinal possui um valor alto de deslocamento químico, pois é desblindado pelo do efeito de eletronegatividade do nitrogênio vizinho.

Os hidrogênios referentes ao anel aromático encontram-se com deslocamento químico menor que o esperado, entre 7,0 e 8,0 ppm, isso pode ser explicado pelo fato de serem derivados dos triptofanos. São observados quatro sinais referentes a esses do anel indólico, F, G, H e I, sendo o sinal em 6,38 ppm, duplo duplete, referente ao hidrogênio H que possui um hidrogênio vizinho na posição *orto* ( $J = 7,70$  Hz) e um na posição *meta* ( $J = 1,1$  Hz). O sinal F, em 6,72 ppm, pode ser atribuído ao hidrogênio ligado ao carbono da amina secundária que, por não possuir nenhum vizinho, é um simpleto. O sinal em 6,65 ppm correspondente ao hidrogênio I, que também tem multiplicidade igual a um



duplo duplete, devido ao acoplamento *orto* ( $J = 8,1$  Hz) e *meta* ( $J = 0,7$  Hz), mas por estar mais próximo do grupo hidroxila é mais desblindado e adquire maior valor de deslocamento químico que o hidrogênio H. O sinal em 6,89 ppm corresponde a um hidrogênio com multiplicidade igual a um tripleto, podendo assim, ser atribuído ao hidrogênio G, já que o mesmo apresenta dois hidrogênios vizinhos na posição *orto* ( $J = 7,7$  Hz). O sinal mais desblindado em 7,02 ppm é correspondente ao hidrogênio não lábil da hidroxila (fenol) que por estar ligada ao anel aromático, devido ao efeito de anisotropia, é mais deslocado que um álcool alifático. No anexo F, os espectros, na ausência de padrão interno, apresentam multiplicidades diferentes das apresentadas no espectro acima (Figura 11) por causa da interação com o ácido maléico. O sinal em, aproximadamente, 5,50 ppm é uma impureza, a qual pode ser atribuída ao ácido fumárico, por a molécula estar na forma de fumarato.

O sinal utilizado para quantificação foi o hidrogênio atribuído ao B, por ser o sinal mais livre de interferentes do espectro. Importante destacar que para a análise da mesma amostra 4-HO-MiPT em D<sub>2</sub>O, após 48 horas de preparo, foi observado que a sua coloração e odor haviam alterado. Assim, foi realizado um teste de estabilidade. Para isso, foram preparadas soluções em MeOD com adição de padrão interno e mais duas amostras, uma em D<sub>2</sub>O e outra em MeOD, ambas sem padrão interno para averiguar se o motivo de tal mudança foi causado pelo solvente utilizado ou pela adição do padrão interno. A partir de espectros de RMN de <sup>1</sup>H, as amostras foram submetidas aos mesmos experimentos, com os mesmos parâmetros, em um período de 24, 48 e 72 horas e então analisadas quanto aos sinais, como multiplicidade e integral, e calculada a pureza.

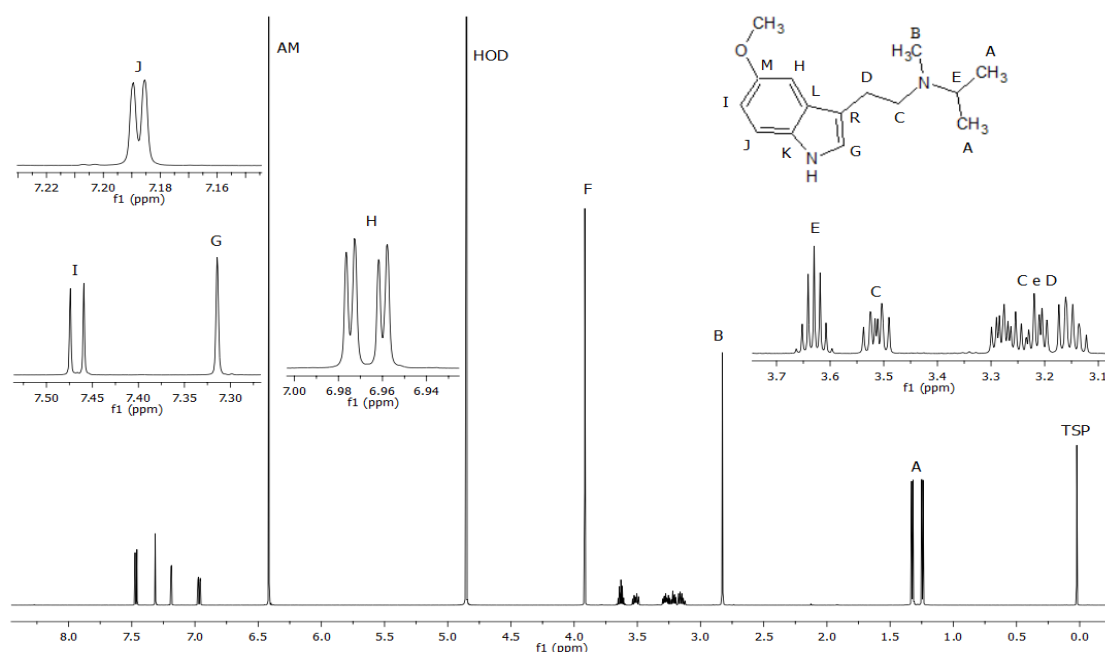
Para a amostra em MeOD e AM, comparando as purezas, pôde-se dizer que não houve alteração significativa, como pode ser observado na tabela 16. Sendo assim, não houve degradação do material em MeOD no período analisado. Quanto as amostras sem PI, não houve alteração significativa quanto aos deslocamentos químicos e multiplicidade dos sinais. Logo, percebe-se que houve mudança do material apenas em solução de D<sub>2</sub>O na presença de PI.

**Tabela 17** Valores de pureza da amostra 4-HO-MiPT durante o teste de estabilidade em um intervalo de 0, 24, 48 e 72 horas.

	0 horas	24 horas	48 horas	72 horas	s
MeOD + AM	87,42%	87,35%	88,95%	88,70%	0,0072

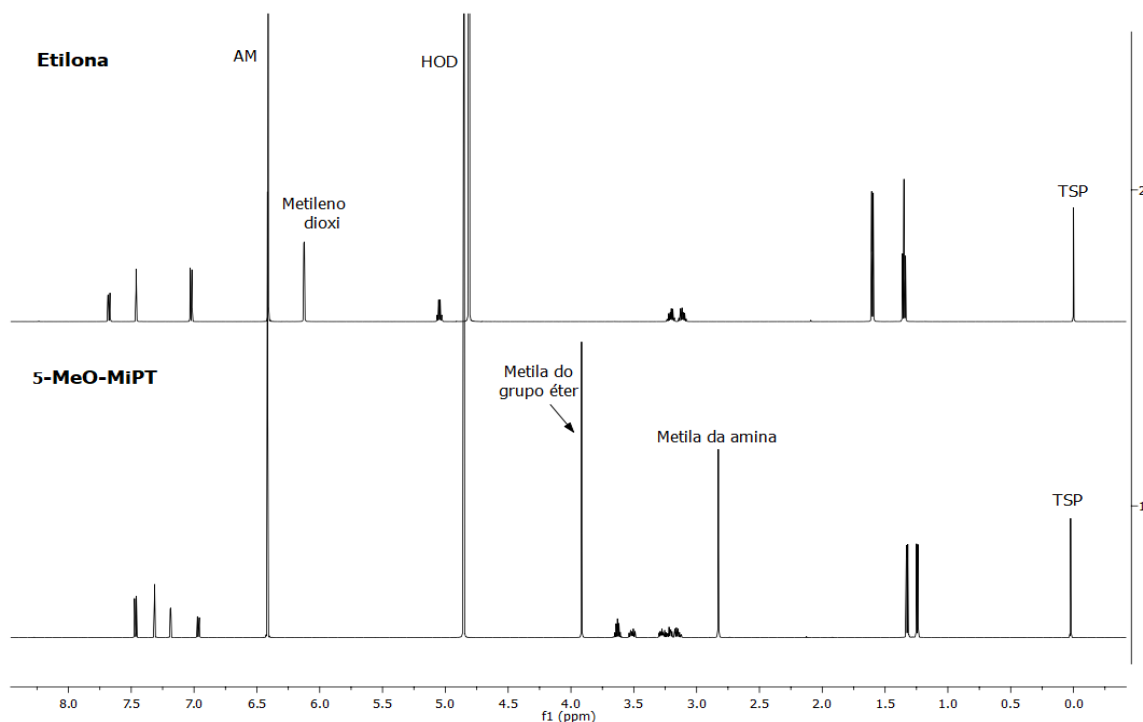
### 5.4.1.2 5-metoxi-*N*-metil-*N*-isopropiltriptamina (5-MeO-MiPT)

Além da substância 4-HO-MiPT, também foi analisado o espectro da triptamina 5-MeO-MiPT (5-metoxi-*N*-metil-*N*-isopropiltriptamina) (Figura 12 e anexo F). A estrutura dessa substância é muito semelhante a estrutura da molécula 4-HO-MiPT, sendo que a única diferença entre as duas triptaminas analisadas é o grupo funcional ligado ao anel benzênico, sendo para o 4-**HO**-MiPT um grupo -OH na posição 4 e para o 5-**MeO**-MiPT um grupo -OCH<sub>3</sub> na posição 5. Essa diferença pode ser observada no espectro pela presença do sinal F em 3,89 ppm, referente ao sinal da metoxila presente na estrutura da substância 5-MeO-MiPT. O sinal utilizado na quantificação foi a metila B, simpleto em 2,80 ppm, por ser um sinal já conhecido, simétrico e com pouco interferente.



**Figura 12** - Estrutura molecular e espectro de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 5-MeO-MiPT em D<sub>2</sub>O e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.

Foram analisadas duas amostras de 5-MeO-MiPT, uma delas foi apreendida e identificada como sendo a substância 5-MeO-MiPT com presença de etilona (Figura 13). Porém, o espectro de RMN de <sup>1</sup>H desse lote não apresenta sinais característicos da etilona, como o metileno dioxi em ~6,10 ppm, apresentado mais detalhado a seguir no item 4.4.2.1. Ao analisar o espectro da figura 13, os sinais da substância 5-MeO-MiPT foram identificados.



**Figura 13** Espectros de  $^1\text{H}$  RMN referente a amostra 5-MeO-MiPT e Etilona, confirmando a ausência da substância Etilona

#### 5.4.2 Catinonas sintéticas

As catinonas sintéticas são NSP que possuem anel aromático com grupo carbonila conjugado em uma cadeia alquílica alifática. Nessa classe de substâncias, foram analisadas as moléculas Etilona polimorfo B, 4-CMC e 4-FMC. Os espectros de cada uma dessas NSP, bem como a atribuição completa dos sinais estão apresentados no anexo G.

##### 5.4.2.1 Etilona

A etilona (*N*-etil-3,4-metilenodioxycatinona) é uma catinona sintética que pode apresentar formas polimórficas. Polimorfos são estruturas que possuem mesma composição química, porém com estruturas cristalinas diferentes, as quais não são detectadas em técnicas como cromatografia e RMN em solução, uma vez que em solução não há memória da forma cristalina<sup>37</sup>. Mas, com sorte, esses dois polimorfos possíveis, identificados como 1A e 1B (Figura 14), são bastante diferentes quanto aos seus hábitos cristalinos, sendo o polimorfo 1A composto por cristais finos e pequenos, e o 1B com cristais maiores e largos (Figura 15)<sup>34</sup>. Porém, essa característica física não é suficiente

para determinar com segurança os polimorfos, para isso, existem algumas técnicas capazes de distingui-los inequivocamente.

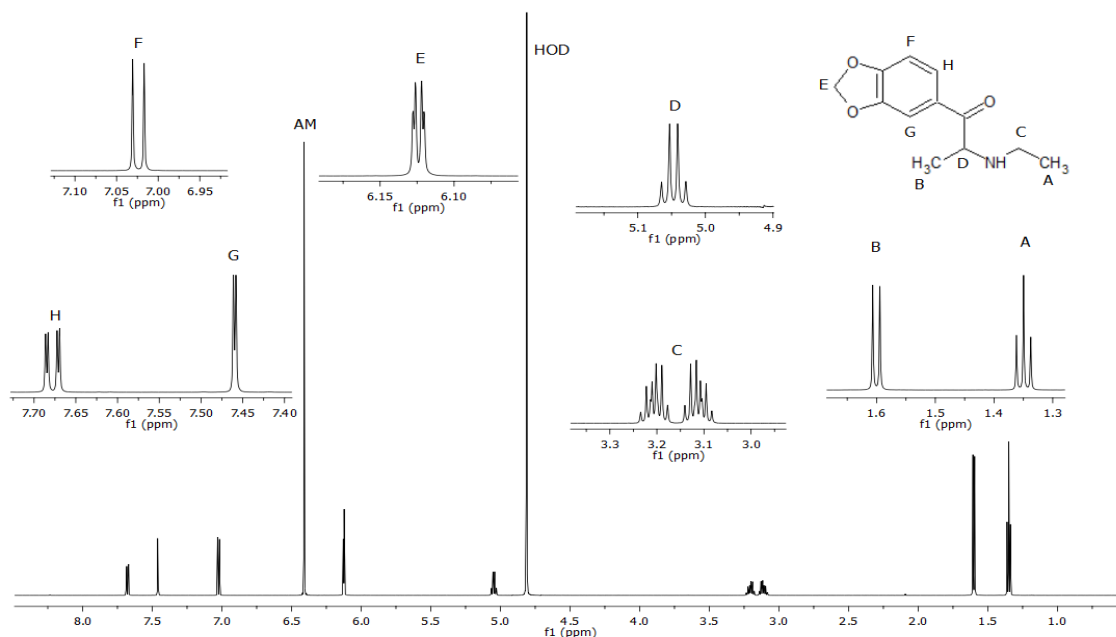


**Figura 14.** Estruturas moleculares dos polimorfos A e B da Etilona<sup>34</sup>.



**Figura 15.** Estruturas cristalinas dos polimorfos 1A e 1B da etilona adaptadas de Maheux, C.R, et Al (2016)<sup>34</sup>.

Embora pela análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em solução da etilona não seja possível distinguir entre os dois polimorfos, é possível fazer a atribuição dos sinais e identificar a presença da etilona na amostra apreendida (Figura 16).



**Figura 16** Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto Etilona em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

Como pode ser observado na figura 16, o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da etilona é um espectro simples. As duas metilas A (1,35 ppm;  $J = 7,3$  Hz) e B (1,60 ppm;  $J = 6,9$  Hz) são, respectivamente, um tripleto, possuindo dois hidrogênios vizinhos C, e um duplete, possuindo um hidrogênio vizinho D. O sinal em 3,15 ppm é característico de dois hidrogênios geminais quimicamente diferentes (núcleos diastereotópicos), identificado como sendo os hidrogênios C ( $J = 7,34$  Hz). A multiplicidade se confunde com um duplo sexteto, mas como os dois hidrogênios não são equivalentes cada hidrogênio,  $\text{H}_{\text{C}1}$  e  $\text{H}_{\text{C}2}$ , possui como vizinho um hidrogênio geminal e os três hidrogênios referentes à metila, logo, formam dois duplos quartetos que se sobrepõem. O sinal em 5,04 ppm, um quarteto ( $J = 6,9$  Hz) integrando para 1H é identificado como o hidrogênio D, possuindo a metila como vizinha e o nitrogênio a duas ligações o que o torna mais desblindado. No anel de cinco membros tem-se dois hidrogênios geminais E que não são quimicamente equivalentes ( $\text{H}_{\text{E}1}$  e  $\text{H}_{\text{E}2}$ ) e geram sinais acoplados. Entre os hidrogênios aromáticos, tem-se apenas três sinais, com integração igual a 1H cada, que estão de acordo com os únicos sinais aromáticos da molécula. Em 7,02 ppm encontra-se um duplete ( $J = 8,1$  Hz) e, pela constante de acoplamento, esse sinal possui um vizinho *orto* a sua posição, excluindo-se a possibilidade de ser o hidrogênio G. Ao analisar os demais sinais, o sinal em 7,46 ppm,

duplete com constante de acoplamento igual a 1,8 Hz, sugere um vizinho *meta* a ele, eliminando a possibilidade do hidrogênio F. Por fim, o sinal em 7,67 ppm um duplo duplete com constantes de acoplamento iguais a 8,1 e 1,8 Hz, o que significa que este sinal acopla com dois outros hidrogênios, um na posição *orto* e outro na posição *meta*, assim, reduzindo as opções ao único hidrogênio que acopla nesses termos, o hidrogênio H. Seguindo esse raciocínio, o sinal em 7,02 ppm se refere ao hidrogênio F e o sinal em 7,46 ppm refere-se ao hidrogênio G.

Além disso, foi possível calcular a pureza e identificar a presença de possíveis interferentes. O sinal utilizado para a quantificação foi o metileno dioxi, um duplo dublete com deslocamento químico de 6,13 ppm ( $J = 2,2$  Hz) e integral 2H. Os resultados mostram que a amostra apreendida é de alta pureza, o espectro não apresenta sobreposição de sinais, que são claros quanto as suas multiplicidades (vide tabela 6, página 31).

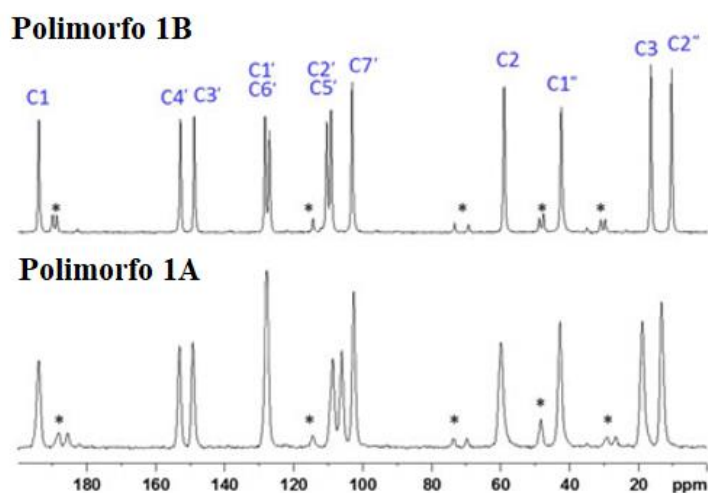
Para caracterizar o polimorfo que foi apreendido, foram realizados os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido e de Difração de Raios-X (Figura 17).



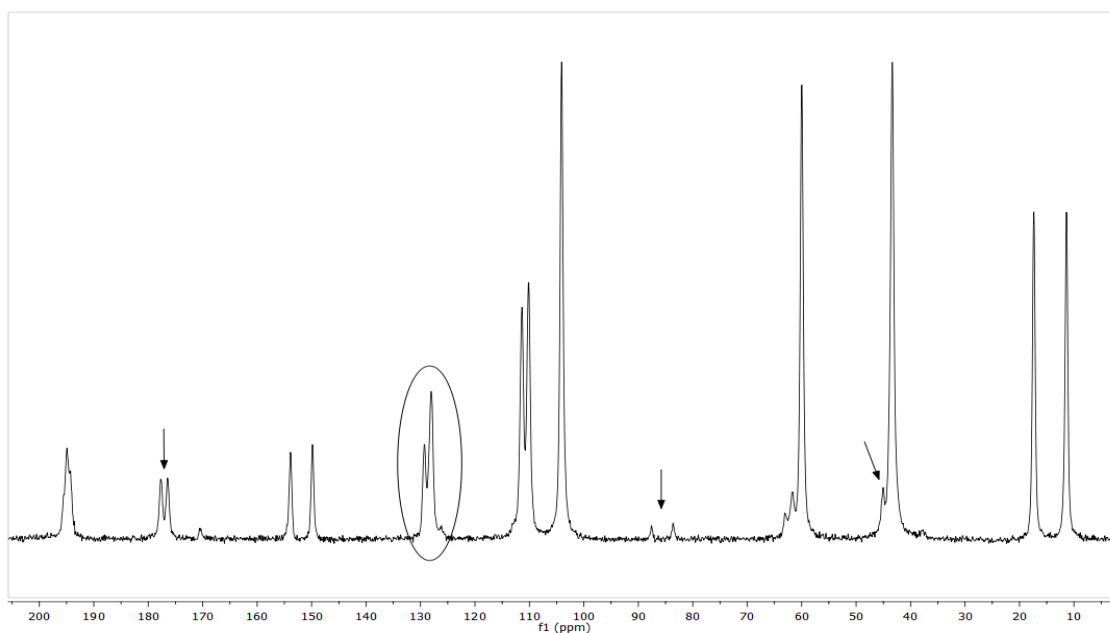
**Figura 17** Amostra de Etilona apreendida pela Policia Federal e analisada nesse trabalho.

Para confirmar o polimorfo apreendido, uma análise detalhada do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido usando a técnica de rotação no ângulo mágico foi realizada. Maheux et. Al (2016)<sup>34</sup> mostraram que os sinais do espectro de  $^{13}\text{C}$  dos polimorfos da etilona são semelhantes, com pouca diferença nos deslocamentos químicos, com exceção de um sinal em aproximadamente 130 ppm, referente à dois carbonos, em que para o polimorfo 1A apresentam o mesmo valor de deslocamento químico e para o polimorfo 1B os mesmos sinais apresentam deslocamento químicos diferentes (Figura 18). A partir do espectro de  $^{13}\text{C}$ -MAS-RMN obtido, observa-se a presença de dois sinais na região de

130 ppm. De acordo com Maheux et. A (2016)<sup>34</sup>, o espectro da amostra apreendida é do polimorfo B (Figura 19).



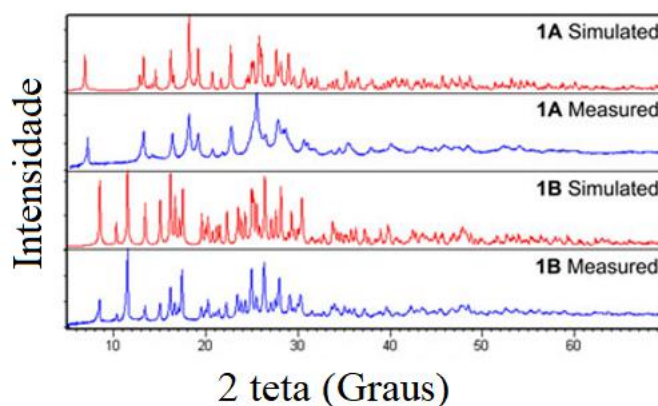
**Figura 18** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido usando a técnica de rotação no ângulo mágico dos polimorfos de etilona 1A e 1B. Os asteriscos identificam sinais de impurezas. Figura adaptada do artigo de Maheux et. Al (2016)<sup>34</sup>.



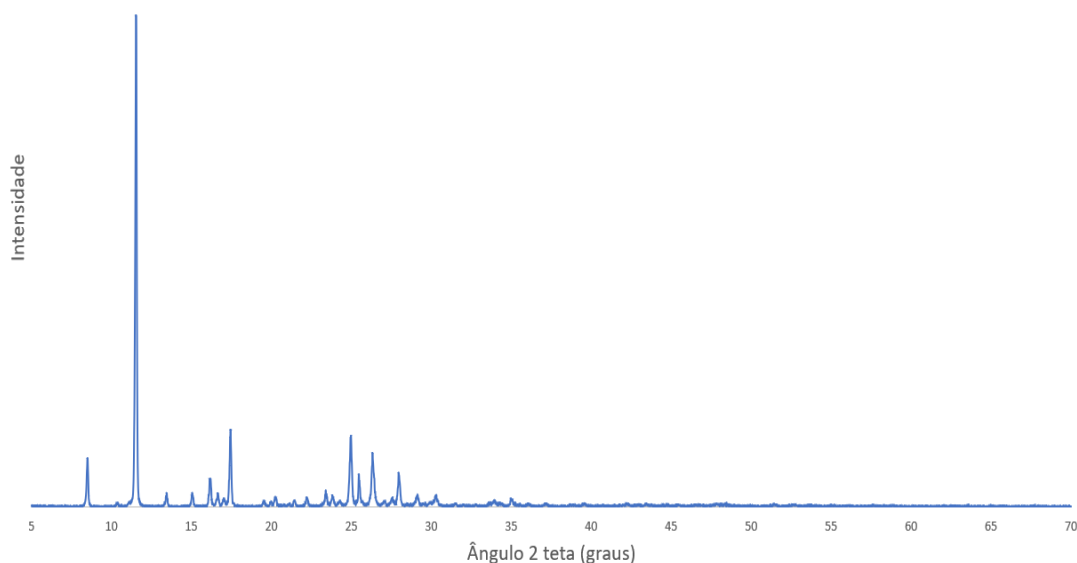
**Figura 19** - Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido usando a técnica de rotação no ângulo mágico da amostra de etilona apreendida pela PF. As setas indicam as impurezas das amostras. O sinal circulado confirma a presença do polimorfo 1B.

Para confirmar o resultado obtido, também foi utilizada a técnica de difração de raios-X (DRX). Essa técnica identifica compostos cristalinos por meio da análise de

interação entre a rede cristalina e a radiação. Quando a amostra interage com a radiação é gerada uma difração, a qual é coletada no detector. Para se obter o difratograma é feita uma varredura dessa difração a partir da variação do ângulo de inclinação<sup>34</sup>. No caso da análise de polimorfos, é possível ver diferença entre os difratogramas uma vez que, por possuírem morfologias diferentes, desviam a radiação de formas diferentes e dessa maneira geram resultados diferentes, como mostra a Figura 20. O difratograma obtido para a amostra de etilona de interesse está apresentado na Figura 21. A comparação do resultado obtido com os dados da literatura mostram que a amostra analisada possui difratograma referente ao polimorfo 1B, em que há picos intensos e em grande quantidade.



**Figura 20** Difratogramas dos polimorfos 1A e 1B simulados e medidos. Figura adaptada de Maheux et al (2016)<sup>34</sup>



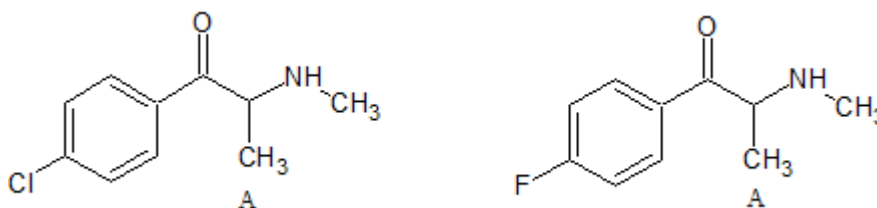
**Figura 21** Difratograma da amostra Etilona realizada na CAIQ - IQ UnB



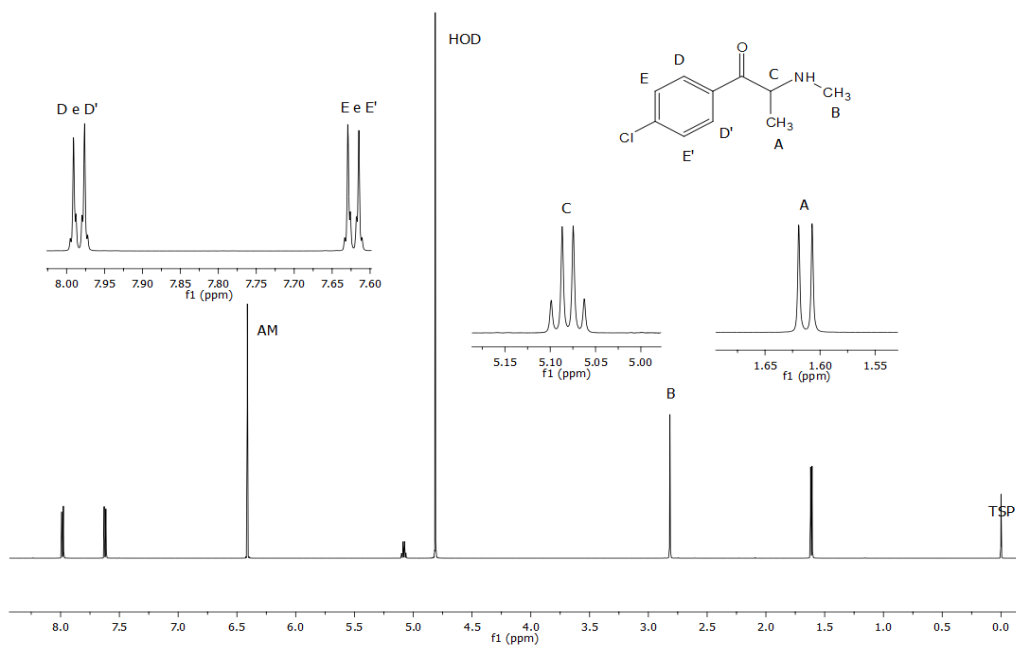
Os sinais entre próximos de 8 e 12 graus são os sinais característicos que dão claramente a informação de qual polimorfo se trata. Para o polimorfo 1A esses dois sinais são mais distantes entre si, decorrendo cerca de 10 graus entre um e outro. Já para o polimorfo 1B esse intervalo de tempo é menor, os dois picos estão mais próximos, decorrendo cerca de 5 graus entre eles, confirmando de que se trata do polimorfo B.

#### 5.4.2.2 4-clorometcatinona e 4-fluormetcatinona

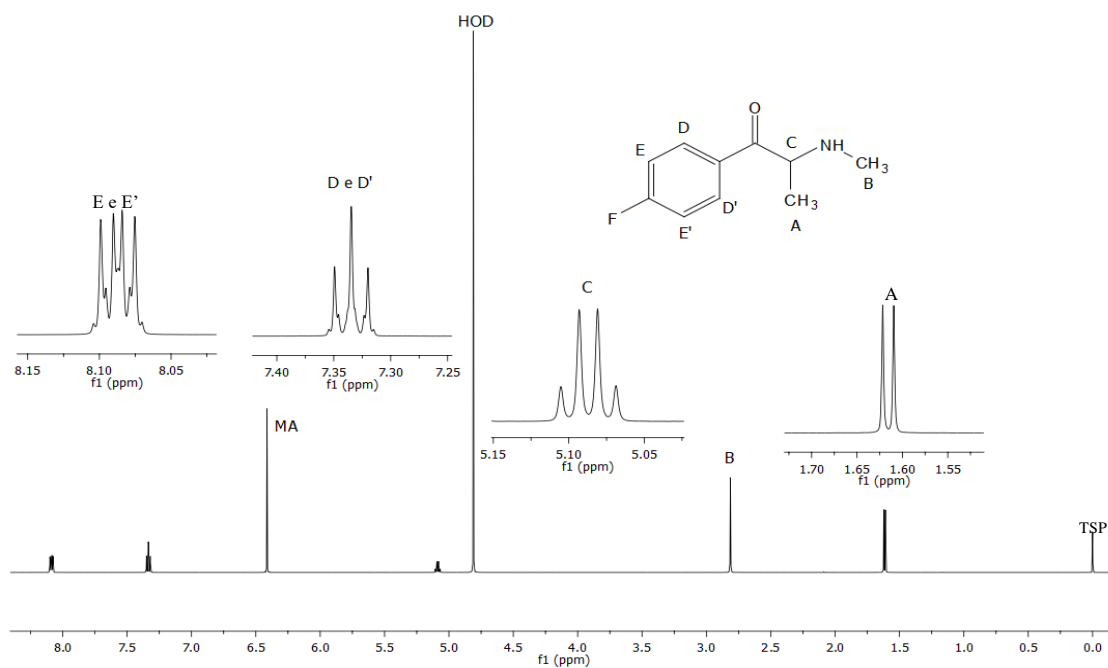
Como o próprio nome diz, as substâncias 4-clorometcatinona (4-CMC) e 4-fluormetcatinona (4-FMC) são catinonas sintéticas que se diferenciam pela substituição do halogênio (Figura 22). As duas moléculas são simétricas e, portanto, os hidrogênios do anel aromático são equivalentes.



**Figura 22-** Estruturas moleculares das substâncias 4-CMC e 4-FMC, respectivamente, com identificação dos hidrogênios quantificados



**Figura 23** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 4-CMC em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.



**Figura 24** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 4-FMC em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

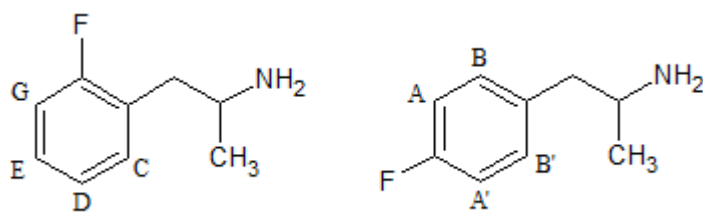
Os espectros de ambas as substâncias são simples e com muitas semelhanças quanto aos valores de deslocamentos químicos e multiplicidade. O que diferencia os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  das substâncias em questão é, principalmente, a região dos aromáticos, em que os sinais do 4-FMC são multipletos (Figura 24). Isso ocorre por que o espectro é de segunda ordem e, portanto, os sinais possuem deslocamento químicos próximos entre si, causando a distorções nas intensidades dos multipletos, como é o caso do sinal em 8,08 ppm. Esse sinal pode apresentar tal multiplicidade por causa do acoplamento com o flúor na posição *orto* a ele. Já para o espectro do 4-CMC (Figura 23), na mesma região são encontrados sinais mais simples, porém também multipletos. Ambos os espectros possuem sinais característicos de substituição *para*, obtendo-se uma região simétrica na porção aromática e com hidrogênios quimicamente iguais, porém, magneticamente diferentes. Isso ocorre por que o hidrogênio E, por exemplo, tem como vizinho na posição *orto* o hidrogênio D, mas o hidrogênio E' tem o hidrogênio D como vizinho na posição *para*. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (anexo G), o carbono ligado ao flúor na substância 4-FMC apresenta acoplamento a esse núcleo. Isso porque o flúor é um núcleo com spin igual a  $1/2$ , logo, pela regra do  $2nI + 1$ , obtém-se um duplete.

Os sinais utilizados para a quantificação foram as metilas do carbono alfa a amina, que são dupletos com deslocamentos químicos de 1,62 ppm ( $J = 7,3$  Hz para o 4-CMC e  $J = 6,9$  Hz para o 4-FMC).

### 5.4.3 Fenetilaminas

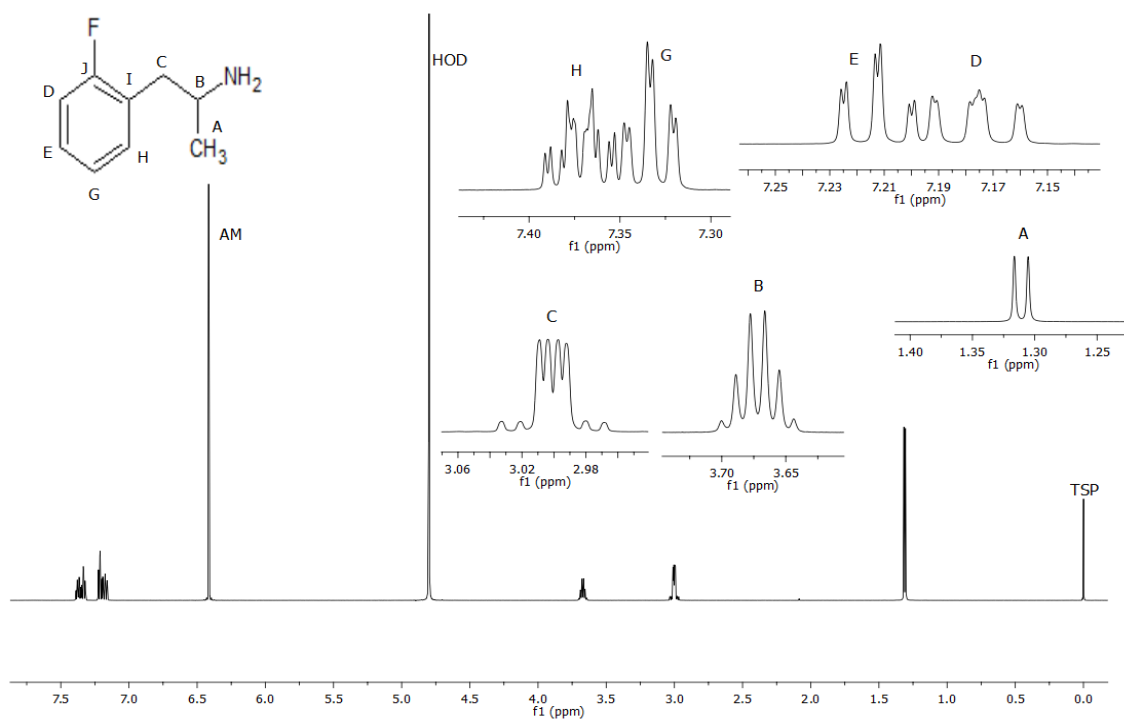
As feniletilaminas são NSP que possuem um anel aromático monosubstituído com grupamento amina primária, podendo haver variações quanto as substituições da parte alquil. Nessa classe de substâncias, foram analisadas as moléculas 2-FA, 4-FA, 2-MAPB, 5-MAPB, DOC, 25B-NBOMe e etilfenidato. Os espectros de cada uma dessas NSP, bem como a atribuição completa dos sinais estão apresentados no anexo H.

Dentro da classe das fenetilaminas estão os isômeros 4-Fluoroanfetamina (4-FA) e 2-Fluoroanfetamina (2-FA), moléculas dissustituídas que diferem entre si na posição do átomo flúor, as quais não são diferenciadas pela técnica de espectrometria de massa, por possuírem a mesma massa molar e mesma fragmentação (Figura 25).

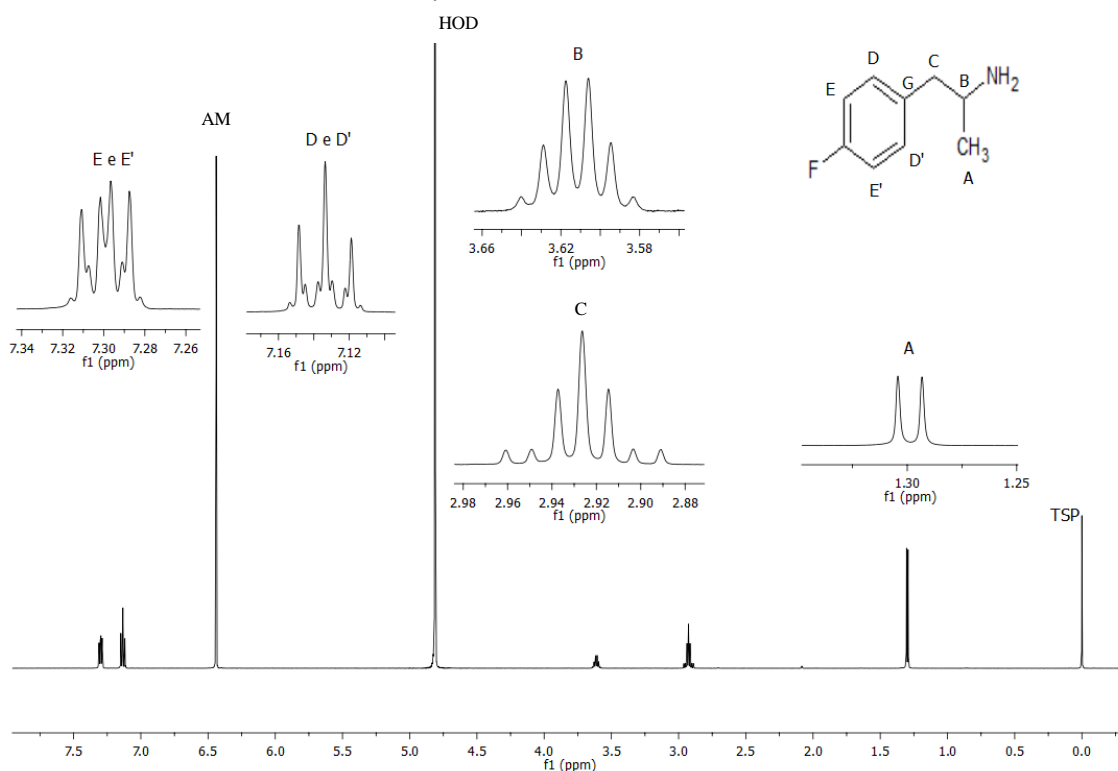


**Figura 25-** Estruturas moleculares das substâncias 2-FA e 4-FA, respectivamente

A identificação desses isômeros pode ser facilmente realizada por meio dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 26 e 27) e também pelos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (anexo H). Quando a substituição do flúor no anel aromático está na posição *para*, têm-se uma molécula simétrica e, por isso, um espectro bastante simples com poucos sinais, mas que também apresenta características de um espectro de segunda ordem, com sinais típicos de hidrogênios quimicamente equivalentes, mas magneticamente diferentes. Já a molécula 2-FA, o flúor está na posição *orto*, o que garante um espectro mais complexo na região aromática, muita sobreposição de sinais e acoplamento com o flúor.



**Figura 26** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 2-FA em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

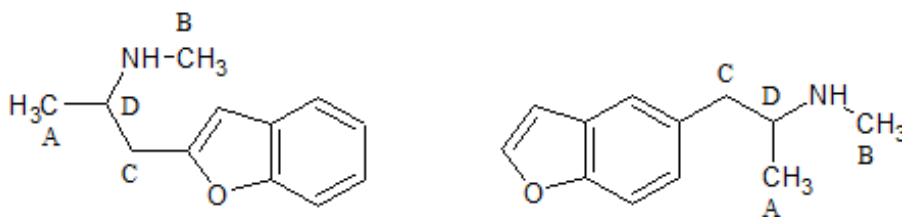


**Figura 27** - Estrutura molecular e espectro de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 4-FA em D<sub>2</sub>O e com adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.

Como era esperado, o espectro de RMN de <sup>1</sup>H obtido (anexo H) para o isômero 4-FA apresenta apenas dois sinais na região de hidrogênios aromáticos, sendo atribuído a dois hidrogênios quimicamente equivalentes A e A' em 7,30 ppm e multiplicidade igual a um multipletto, integral de 2H. O maior valor de deslocamento químico é devido ao efeito indutivo devido à maior eletronegatividade do flúor. Os outros dois hidrogênios equivalentes, B e B', foram atribuídos ao sinal em 7,13 ppm, multiplicidade igual a um multipletto e integral de 2H. Já para o isômero 2-FA, na mesma região, encontram-se quatro sinais para os hidrogênios D, E, G e H que apresentam as multiplicidades iguais a duplo dupletto, triplo dupletto, triplo dupletto e multipletto, respectivamente. Devido a sobreposição de sinais na região dos hidrogênios aromáticos, os sinais utilizados para a quantificação das amostras foram os sinais referentes às metilas em 1,31 ppm (dupletto,  $J= 6,6$  Hz, 3H).

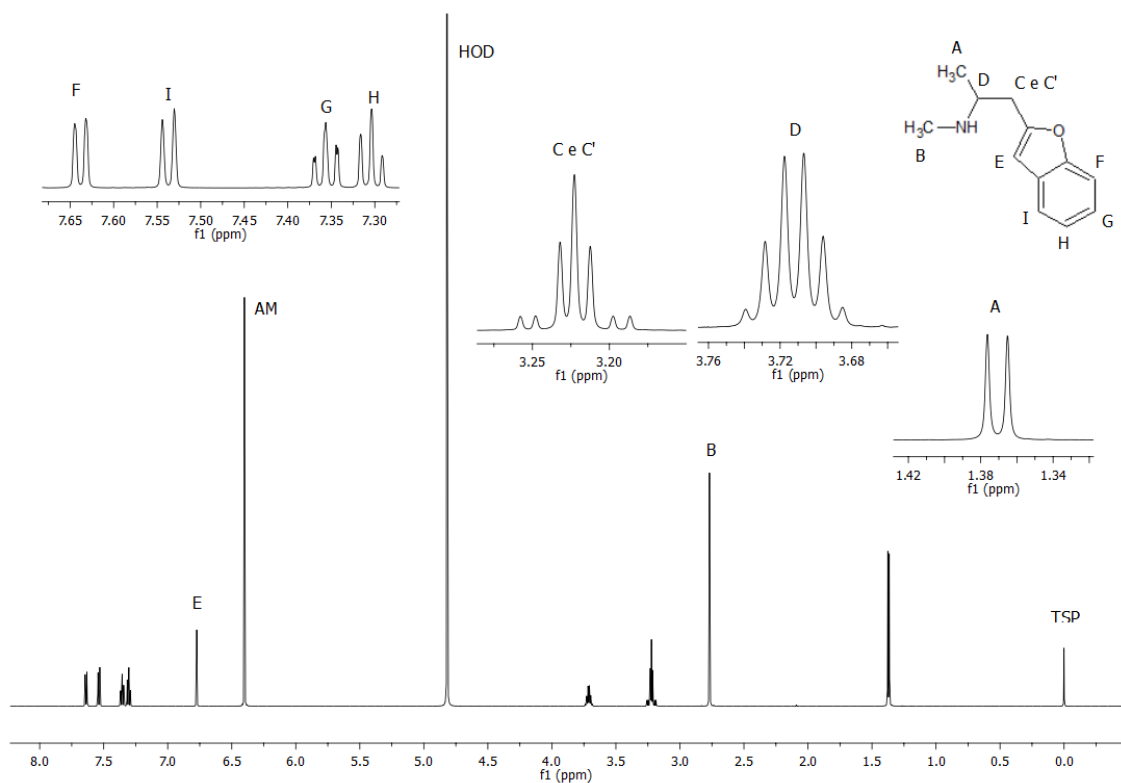
Outros dois isômeros estudados foram *N*, $\alpha$ -dimetil-2-benzofuranetanoamina (2-MAPB) e *N*, $\alpha$ -dimetil-5-benzofuranetanoamina (5-MAPB) que diferenciam entre si pela

posição da substituição (Figura 28). Novamente, a identificação desses isômeros pode ser facilmente realizada por meio dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ .

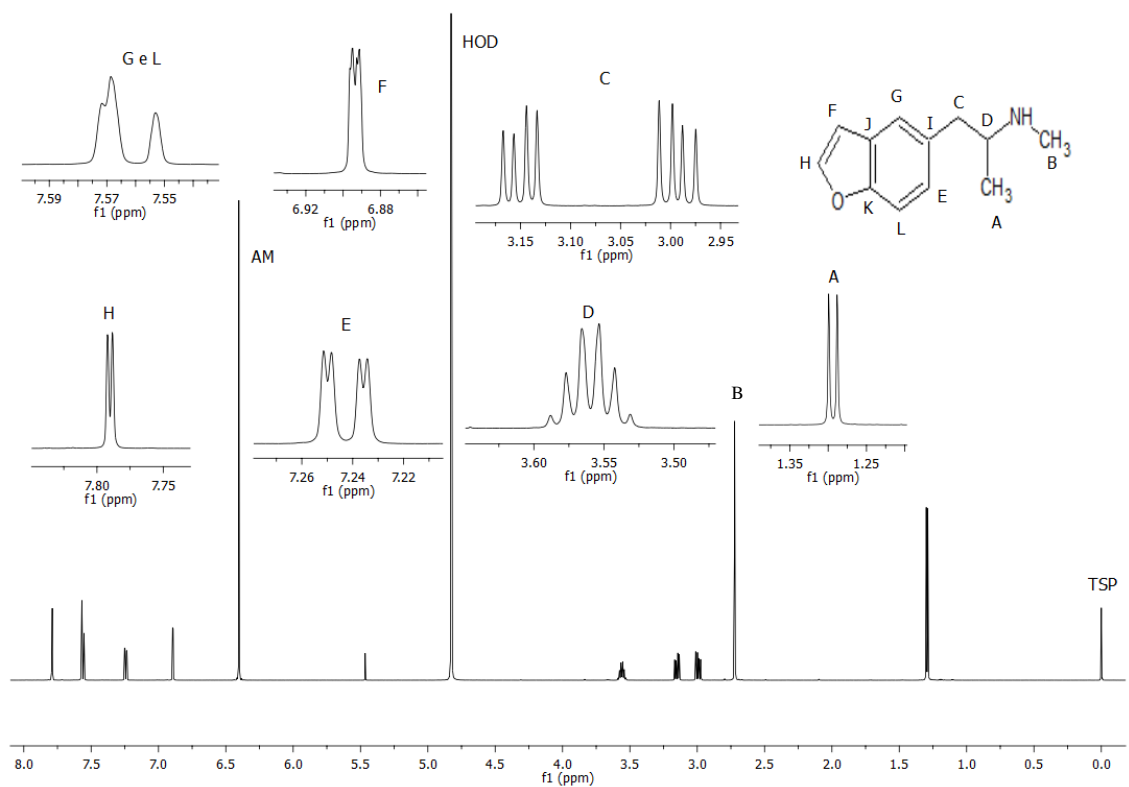


**Figura 28-** Estrutura molecular das substâncias 2-MAPB e 5-MAPB, respectivamente

Os espectros obtidos para ambos isômeros possuem algumas diferenças, em particular o sinal dos hidrogênios C que, devido ao efeito de anisotropia, são encontrados na região entre 3,00 - 3,30 ppm (anexo H e figura 29 e 30). Ao comparar os espectros, os sinais referentes ao hidrogênio C, identificado nas figuras 29 e 30, apresentam multiplicidades diferentes. Para o 2-MAPB, o espectro da Figura 29, espera-se uma multiplicidade equivalente a um duplete, mas o observado é um tripleto. Isso porque os dois hidrogênios, C e C', possuem deslocamentos tão próximos que esses sinais se sobrepõem fazendo com que esses sinais se coalesçam em um tripleto. Já para o 5-MAPB, os dois hidrogênios C são diastereotópicos, por isso, os sinais apresentam valores de deslocamento químico distintos, porém, sinais espelhados (Figura 30). Em ambas as estruturas, o hidrogênio D integra para 1H e possui multiplicidade igual a um sexteto ( $J = 6,6$  Hz), pois em ambos os casos o mesmo acopla com a metila A e dois hidrogênios C. Além dos sinais dos hidrogênios aromáticos, no isômero 2-MAPB são observados cinco sinais bem definidos, com multiplicidade bem resolvida, já no isômero 5-MAPB apenas quatro sinais são observados, com multiplicidades diferentes do 2-MAPB. Um dos sinais possui integral igual a 2H, o que significa que dois hidrogênios possuem o mesmo deslocamento químico devido a uma sobreposição de sinais. Para a quantificação das substâncias, foram utilizados os sinais referentes às metilas A, em 1,38 ppm (duplete,  $J = 6,9$  Hz) para o 2-MAPB e 1,30 ppm (duplete,  $J = 6,6$  Hz) para o 5-MAPB.

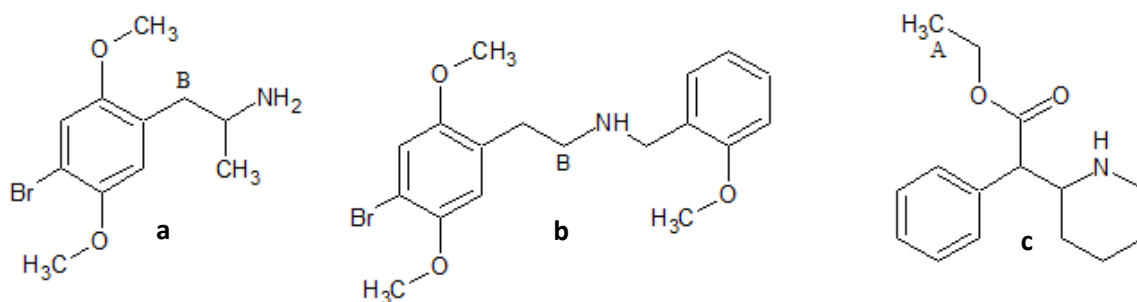


**Figura 29** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 2-MAPB em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

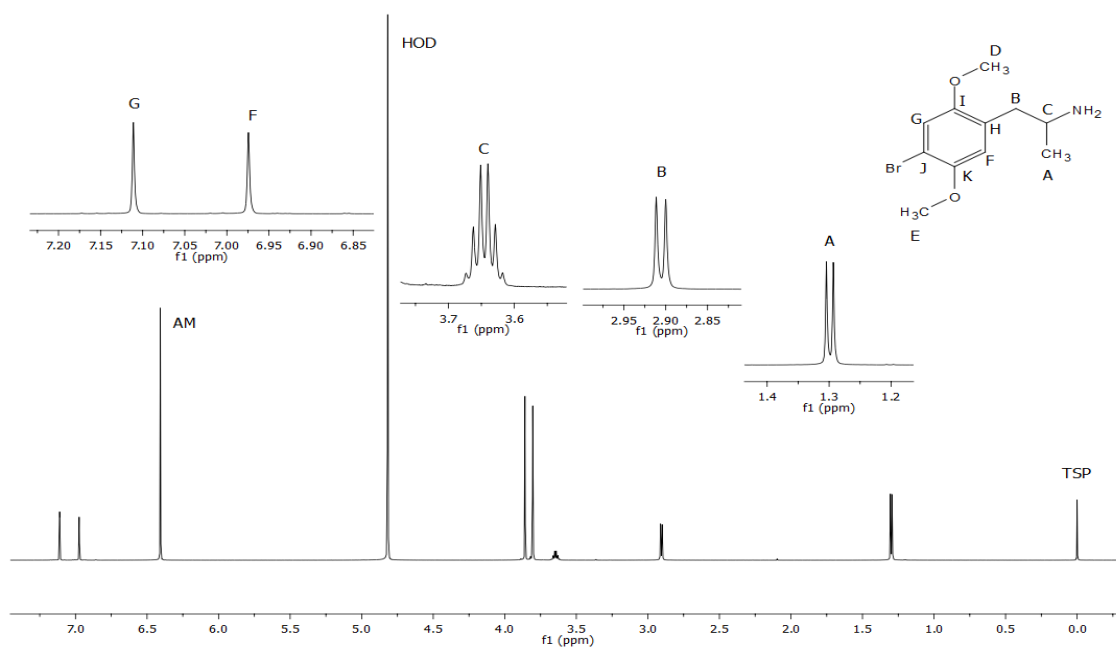


**Figura 30** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 5-MAPB em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

Por fim, as substâncias com estruturas mais complexas foram analisadas (Figura 31) e seus respectivos espectros são mostrados nas figuras 32 a 34. A atribuição completa dos sinais foi realizada e os dados estão apresentados no anexo H.

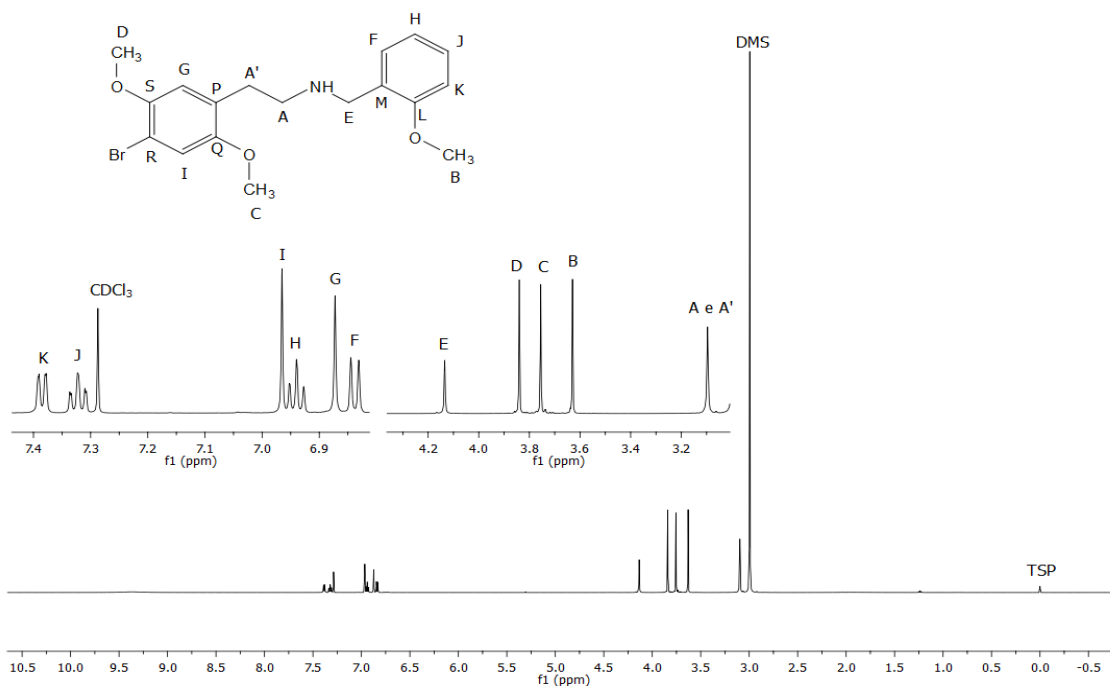


**Figura 31** - Estruturas moleculares das substâncias DOC (a), 25B-NBOMe (b) e Etilfenidato (c). As letras em maiúsculo indicam os hidrogênios usados para quantificação

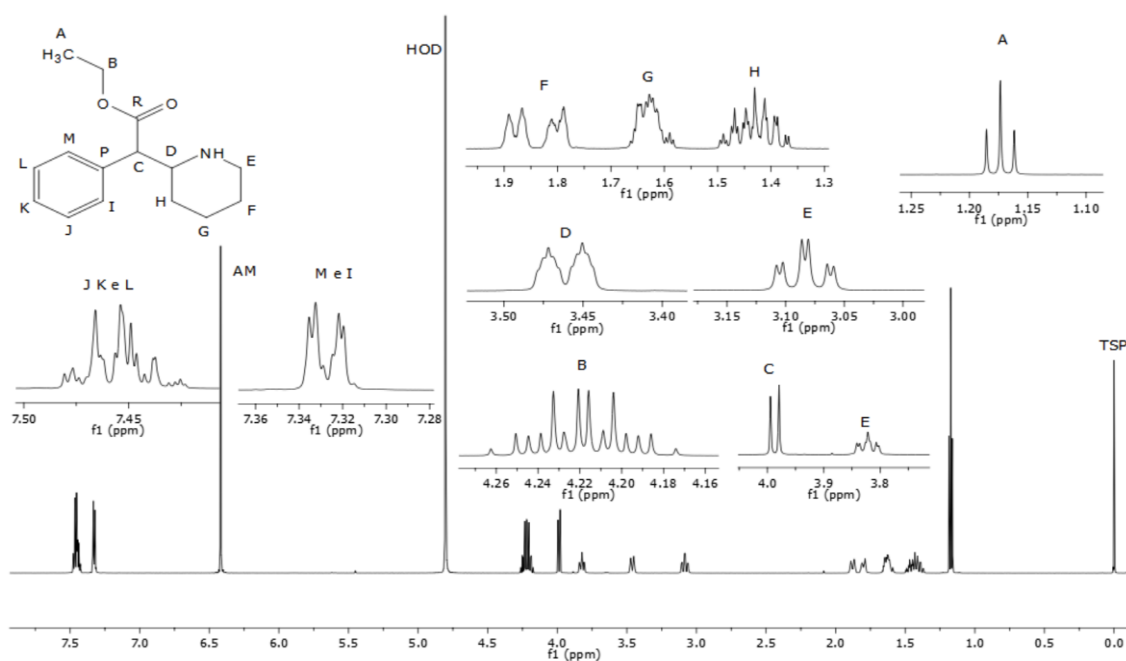


**Figura 32** Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto DOC em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.





**Figura 33** Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 25B-NBOMe em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.



**Figura 34** Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto Etilfenidato em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

A substância 4-Cloro-2,5-dimetoxianfetamina (DOC), derivada das anfetaminas com dois substituintes metoxilas e um cloro na posição quatro do anel benzênico possui um espectro simples e sinais com boa resolução, sendo assim, de fácil caracterização e identificação dos hidrogênios (Figura 32). Para a quantificação, o sinal utilizado foi o metileno B ( $J = 6,9$  Hz), duplete, por ser o sinal livre de interferentes.

A molécula 2-(4-bromo-2,5-dimetoxifenil)-*N*-(2-metoxibenzil)etanamina (25B-NBOMe) é uma molécula maior do que as demais trabalhadas, com dois anéis benzênicos, um grupamento amino, três grupos metoxi e um átomo de bromo na posição 4. Algumas impurezas são encontradas no espectro. Apesar disso, o espectro (Figura 33 e anexo H) é bem simples e apresenta três simpletos característicos das metoxilas na região de deslocamento químico de 3,5 a 4,0 ppm, além dos metilenos entre 2,8 a 4,3 ppm e os aromáticos na região de 6,9 a 7,5 ppm. O sinal utilizado na quantificação foi o metileno B, um tripleto ( $J = 6,9$  Hz) em 3,24 ppm e integral de 2H (Figura 33).

Para completar a classe das fenetilaminas, o etilfenidato (etil fenil(piperidin-2-il)acetato) é uma substância semelhante à ritalina (metilfenidato), com anel benzênico e um grupo éster, além da amina secundária. O espectro da figura 34 possui muitos sinais sobrepostos, o que dificulta a caracterização inicial, necessitando de experimentos bidimensionais para a identificação completa. A atribuição completa dos sinais está apresentada no anexo H. O sinal quantificado foi o referente a metila A, um tripleto ( $J = 6,9$  Hz) e deslocamento químico de 1,17 ppm.

## 6 CONCLUSÃO

A quantificação por RMNq de  $^1\text{H}$  a partir da metodologia de padrão interno mostrou-se adequada para fins forenses. O método apresenta bons resultados para a precisão, a partir do coeficiente de variação das amostras e a incerteza do método calculada, em que foram obtidos valores abaixo de 2% e 0,45%, respectivamente, concluindo-se que o método é adequado para a quantificação com padrão interno. A partir dos resultados encontrados para as amostras dos exercícios da UNODC, os quais possuíram boa concordância entre os valores calculados e as referências fornecidas pelo órgão, pôde-se perceber uma boa exatidão do método. O teste t pareado atestou a equivalência estatística entre os dados analisados e fornecidos como referência, a partir da aceitação da hipótese nula ( $H_0: \mu = 0$ ), comprovando a adequação dos resultados. Além disso, esses resultados foram úteis para comprovar a adequação da aplicação do método às substâncias ilícitas que pôde ser estendida a pesquisa para a quantificação das amostras de NSP. O desenvolvimento de métodos de quantificação de NSP é bastante desafiador, levando em conta a diversidade de substâncias existente e a diversidade das matrizes que muitas são complexas. A partir da incerteza calculada também é possível avaliar que o método desenvolvido pode ser aplicado para a análise de dezessete amostras de NSP apreendidas pela Polícia Federal com resultados que atendem aos indicadores de qualidade do SEPLAB/INC.

A partir da quantificação das amostras de NSPs, foram encontrados baixos coeficientes de variação, resultados abaixo de 3%, mais uma vez sugerindo boa precisão do método. Esse resultado está em concordância com os dados encontrados na literatura. As amostras de NSP se mostraram estáveis em solução por de um período de 48 horas, não havendo diferença significativa entre as purezas calculadas. O método se mostrou seletivo para tais amostras, podendo ser confirmado pela não sobreposição dos sinais escolhidos para a quantificação com os sinais dos possíveis adulterantes. Também foram calculados os limites de detecção e quantificação para cada amostra a partir da relação sinal/ruído.

No presente trabalho também foi possível confirmar a estrutura das dezessete amostras de NSP por meio da atribuição inequívoca de todos os sinais dos espectros de RMN monodimensionais de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e dos espectros bidimensionais  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC. A partir das análises qualitativas e quantitativas dessas

amostras, foi observada a concordância entre os resultados obtidos com os laudos da Perícia da Polícia Federal. Assim, foi possível auxiliar a perícia da Polícia Federal em ações em andamento, bem como ajudar na formação de banco de dados, uma vez que as amostras de NSP analisadas encontraram-se com alto grau de pureza, podendo se tornar amostras de referência para futuras análises, bem como na análise de elaboração de rota de tráfico, a partir do perfil químico da substância, como por exemplo presença de adulterantes encontrados nas amostras apreendidas e grau de pureza.

A identificação e caracterização das Novas Substâncias Psicoativas por RMN já são bem descritas pela literatura, sendo uma técnica bastante difundida para esta finalidade. Já a análise quantitativa por RMN, ou RMNq, a quantidade de trabalhos publicados é bem diminuta, sendo, em sua maioria, utilizando técnicas de cromatográfica, CG-MS, LC-MS e HPLC. As amostras encontradas na literatura estão, comumente, em soluções com  $\text{CDCl}_3$  e MeOD, mas amostras como 2-FA, 4-FA, 4-FMC e 4-CMC são encontradas em  $\text{D}_2\text{O}$ , mesmo solvente utilizado na maioria das amostras analisadas.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. NIXON, C.; ORMEROD, I. E. C.; JOHNSON, G. Nuclear magnetic resonance. **Anaesthesia**, v. 41, n. 2, p. 131–137, 1986.
2. PFEIFER, H. A short history of nuclear magnetic resonance spectroscopy and of its early years in Germany. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 37, n. 13, p. S154–S159, 1999.
3. CLARIDGE, T. D. W. **High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry**, 2016.
4. RUTGERS UNIVERSITY. **Case Group: NMR Spectroscopy, Applications**, c2019. Inotes, NMR Lecture. Disponível em: [http://casegroup.rutgers.edu/Inotes/NMR\\_lecture.pdf](http://casegroup.rutgers.edu/Inotes/NMR_lecture.pdf).
5. MURALI, N. **NMR Spectroscopy: Principles and Applications**, 2010. Course Materials, Lecture 1. Disponível em: [https://chem.rutgers.edu/images/murali/course-materials/Chem\\_542\\_Spring2010\\_Lecture\\_1.pdf](https://chem.rutgers.edu/images/murali/course-materials/Chem_542_Spring2010_Lecture_1.pdf)
6. PAVIA, D.L et. al. **Introduction to Spectroscopy**. 3. Ed. Washington: Thomson Learning, 2001.
7. Universidade de Michigan. Departamento de Química, 2013: <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reu.ch/virtxtjml/spectrpy/nmr/nmr1.htm>
8. MALZ, F.; JANCKE, H.. Validation of quantitative NMR. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, [s.l.], v. 38, n. 5, p.813-823, ago. 2005. Elsevier BV
9. SANTOS, A.d.c. Forensic NMR spectroscopy: Just a beginning of a promising partnership. **Trends In Analytical Chemistry**. Curitiba, p. 31-42. out. 2018.
10. QUANTITATIVE NMR - Technical Details and TraceCERT® Certified Reference Materials, Sigma Aldrich.
11. SANTOS, S. Desenvolvimento de Métodos de RMN para Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos e Agrícolas. p. 156, 2014.
12. BENEDITO, L. E. C.; MALDANER, A. O.; OLIVEIRA, A. L. An external reference <sup>1</sup>H qNMR method (PULCON) for characterization of high purity cocaine seizures. **Analytical Methods**, v. 00, p. 1–7, 2017.

13. ARAÚJO, A. M. C. **Psychoactive substances present in “legal highs” acquired in “smartshops” or via Internet: Chemical characterization and in vitro cytotoxicity studies of synthetic cathinones.** 2013. 161 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade do Porto, Porto, 2013.
14. ZHAO, Jianping et al. Detection and Quantification of Phenethylamines in Sports Dietary Supplements by NMR Approach. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis.** Mississippi, p. 347-355. dez. 2018
15. ELLISON, S. L. R. et al. EURACHEM/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 191, 2003.
16. SINGH, Suruchi; ROY, Raja. The Application of Absolute Quantitative <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy in Drug Discovery and Development. **Expert Opinion On Drug Discovery.** Lucknow, p. 695-706. Julho, 2016.
17. BRITO, N. M. et al. Validação De Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão. **Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129–146, 2003
18. **Introduction method valid.** Valid Analytical Measurement, United Kindom, 2006. Disponível em: <<https://biosearch-cdn.azureedge.net/assets/v6/Introduction-to-method-validation.pdf>>
19. INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos:** Documento de caráter orientativo. Disponível em: <[http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8\\_05.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf)>
20. VESSMAN, Jörgen et al. SELECTIVITY IN ANALYTICAL CHEMISTRY: IUPAC Recommendations 2001. **International Union Of Pure And Applied Chemistry: ANALYTICAL CHEMISTRY DIVISION**, Mölndal, v. 73, n. 8, p.1381-1386, 2001.
21. HUBER, L. Validation of Analytical Methods. **Agilent Technologies**, v. 2, p. 1–65, 2010.
22. ALMEIDA, Nathália Siqueira. **Desenvolvimento e validação de metodologias para quantificação de 3,4 metilendioximetanfetamina (MDMA) em comprimidos de ecstasy por cromatografia gasosa e ressonância magnética nuclear.** Dissertação (Mestrado em Química)—Universidade de Brasília, Brasília, 2016

23. ELLISON, S. L. R. et al. EURACHEM/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 191, 2003.
24. ANVISA. **Relatório de atividades 2015/2016**: relatório de atividades 2015/2016. 2017. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33868/3233591/Relato%C2%B4rio+com+pleto+vfinal.pdf/0651b912-8261-4560-8eff-5ba42c37cbcf>>.
25. WELTER-LUEDEKE, J.; MAURER, H. H. New Psychoactive Substances. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 38, n. 1, p. 4–11, 2016.
26. PEREIRA, M, M. et al. Evolução do uso abusivo de derivados de ópio. **Saúde, Ética & Justiça**, v. 21, n. 1, p. 12–17, 2016.
27. United Nations of Drugs and Crimes. **Drogas: Marco legal**. Disponível em: <<https://www.unodc.org/lpo-brazil/pt/drogas/marco-legal.html>>
28. GREENE, Shaun L. **Novel Psychoactive Substances**: Chapter 15 - Triptamines. Melbourne: Academic Press, p. 363-381, 2013.
29. United Nations Office On Drugs And Crime. **Global Synthetic Drugs Assessment**, p. 1–88, May, 2014.  
<[http://www.unodc.org/documents/lpobrazil//Topics\\_drugs/Publicacoes/Global\\_Drugs\\_Assessment\\_2017.pdf](http://www.unodc.org/documents/lpobrazil//Topics_drugs/Publicacoes/Global_Drugs_Assessment_2017.pdf)>
30. United Nations Of Drugs And Crime. **Sobre a UNODC**. Disponível em: <<https://www.unodc.org/unodc/en/about-unodc/index.html>>
31. United Nations Of Drugs And Crime. **International Collaborative Exercises: Drug Analysis**, 2009.
32. United Nations Of Drugs And Crime. **International Collaborative Exercises: Drug Analysis**, 2013.
33. Protocol to the International Collaborative Exercises within the International Quality Assurance Programme, **United Nations International Drug Control Programme**, V.98-55524 (E), 1998.
34. MAHEUX, C. R. et al. Identification of polymorphism in ethylone hydrochloride: synthesis and characterization. **Drug Testing and Analysis**, v. 8, n. 8, p. 847–857, 2016.
35. SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. et al. **Fundamentos de química analítica**. São Paulo: Thomson Learning, 2006

36. PEDOTT, Alexandre. **Metrologia e Ensino: Incerteza de Medição**, Rio Grande do Sul: Slide, 2012. Color
37. RICARTE, Ivan Luiz Marques. **Polimorfismo**. 2018. Disponível em: <<http://www.dca.fee.unicamp.br/cursos/PooJava/polimorf/index.html>>

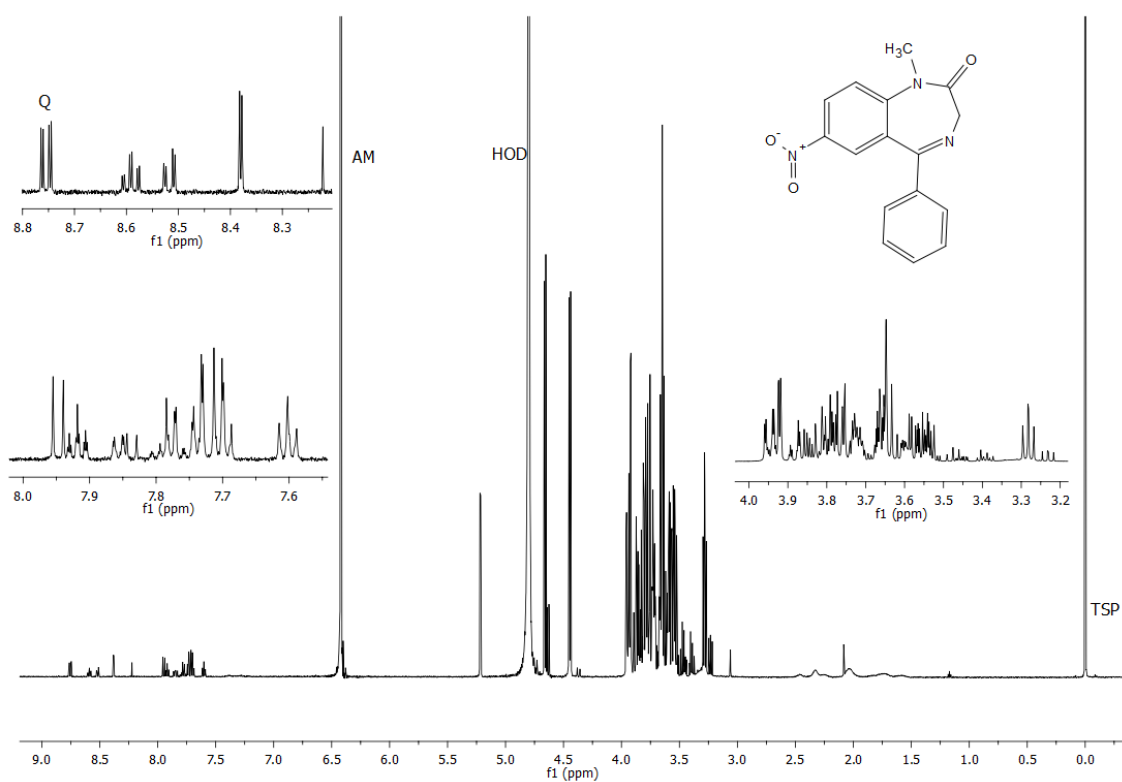


## ANEXO A

Espectros das amostras do programa ICE da UNODC

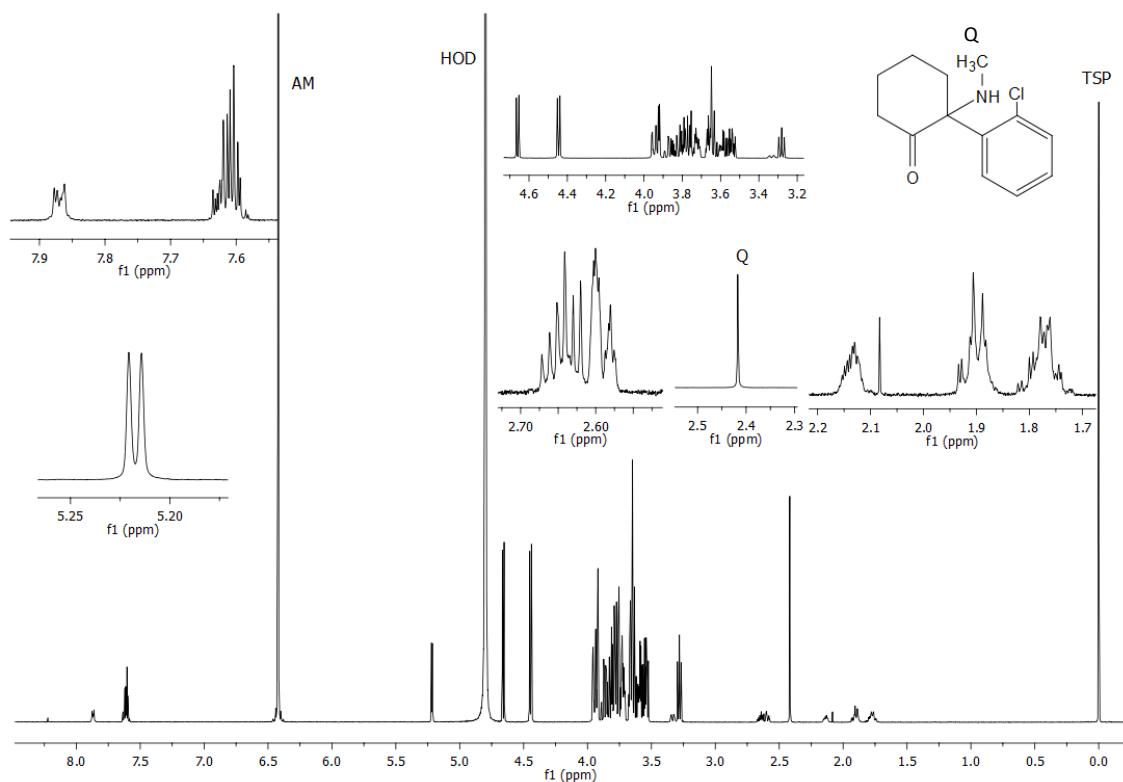
### 1. Exercício 2/2015

#### 1.1 SM2 - Nimetazepam



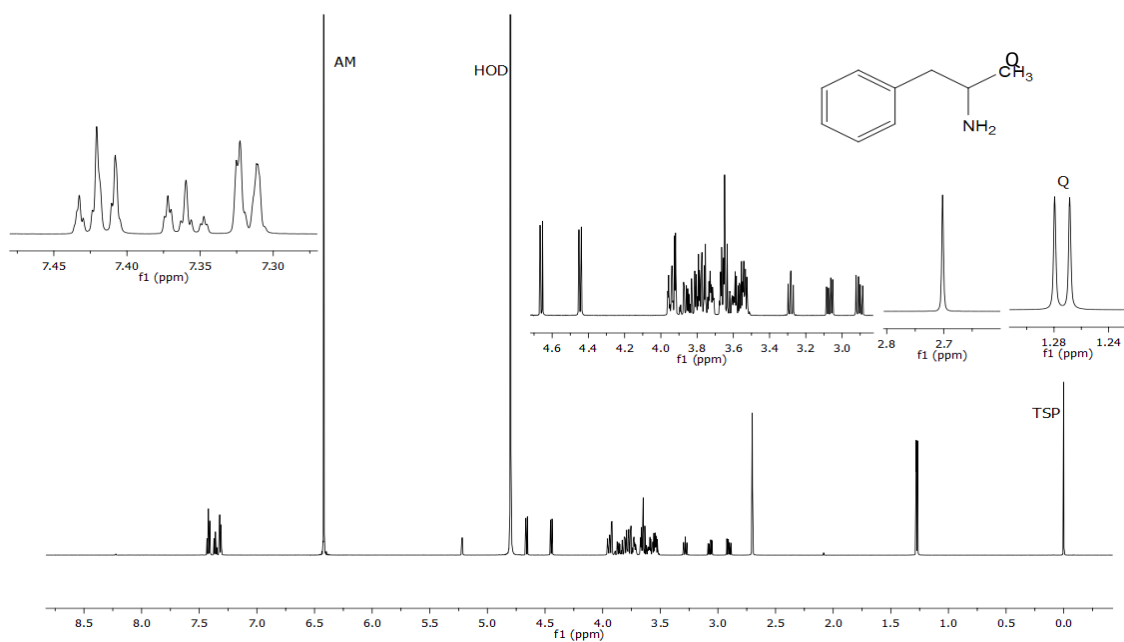
**Figura 35.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra Nimetazepam (código SM2) do exercício 2/2015 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito.

## 1.2 SM3 - Cetamina



**Figura 36** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra Cetamina (código SM3) do exercício 2/2015 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

## 1.3 SM4 – Anfetamina

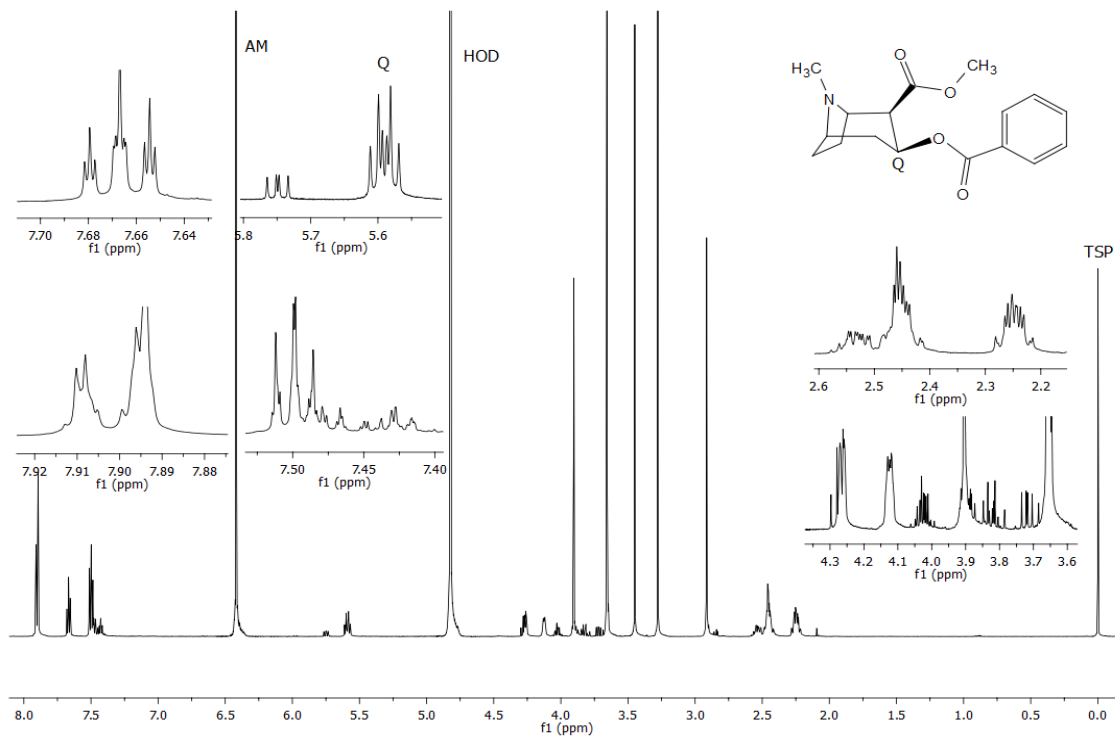


**Figura 37** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra Anfetamina (código SM4) do exercício 2/2015 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

## ANEXO B

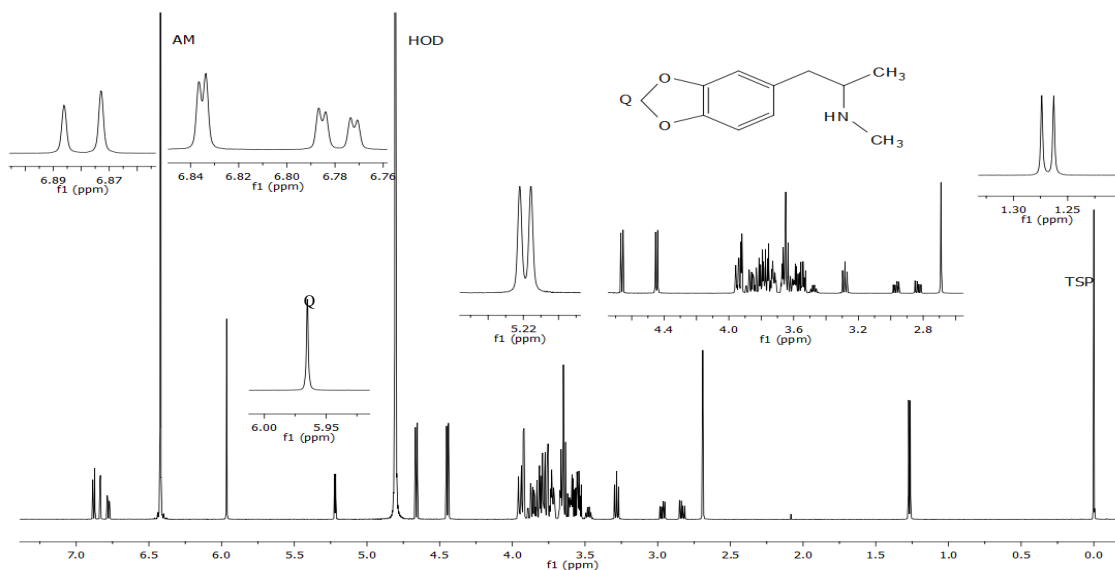
### 2. Exercício 1/2016

#### 2.1 SM1 – Cocaína



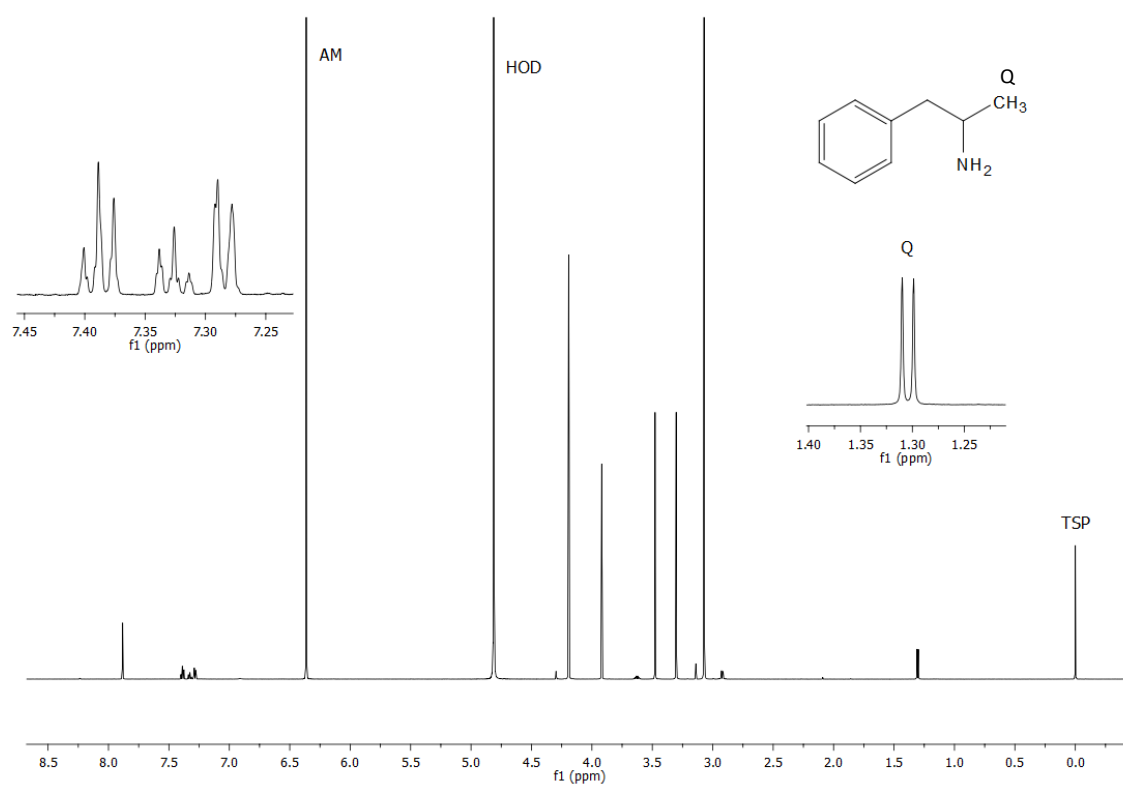
**Figura 38** - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) da amostra Cocaína (código SM1) do exercício 1/2016 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

#### 2.2 SM2 – MDMA



**Figura 39** - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) da amostra MDMA (código SM2) do exercício 1/2016 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

### 2.3 SM3 – Anfetamina

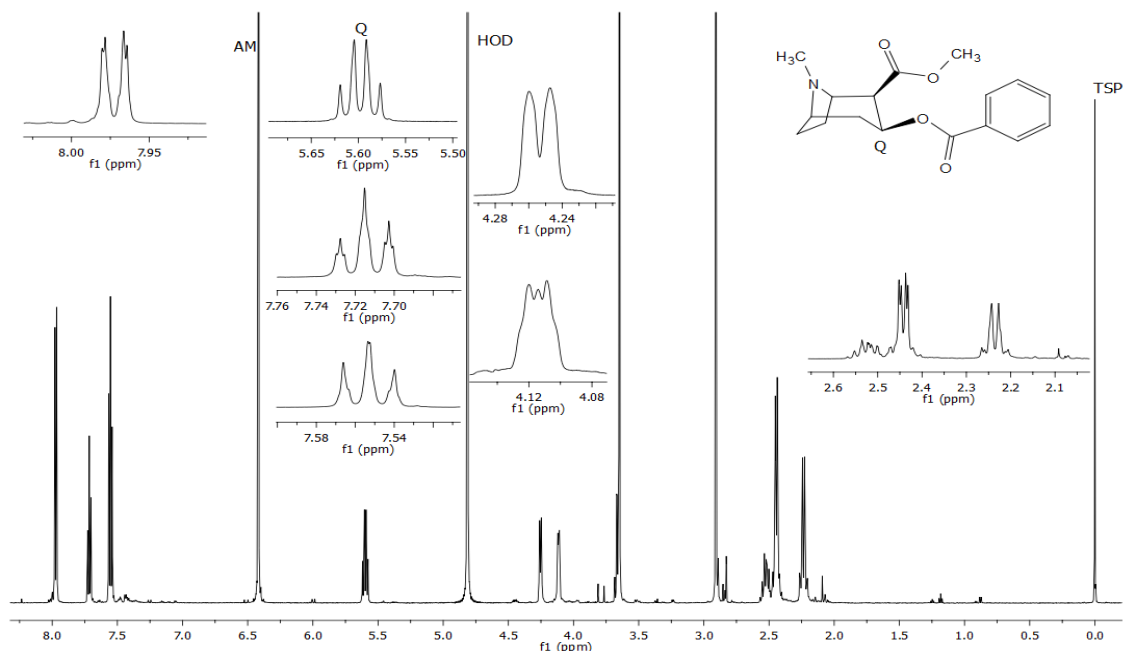


**Figura 40** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra Anfetamina (código SM3) do exercício 1/2016 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

## ) ANEXO C

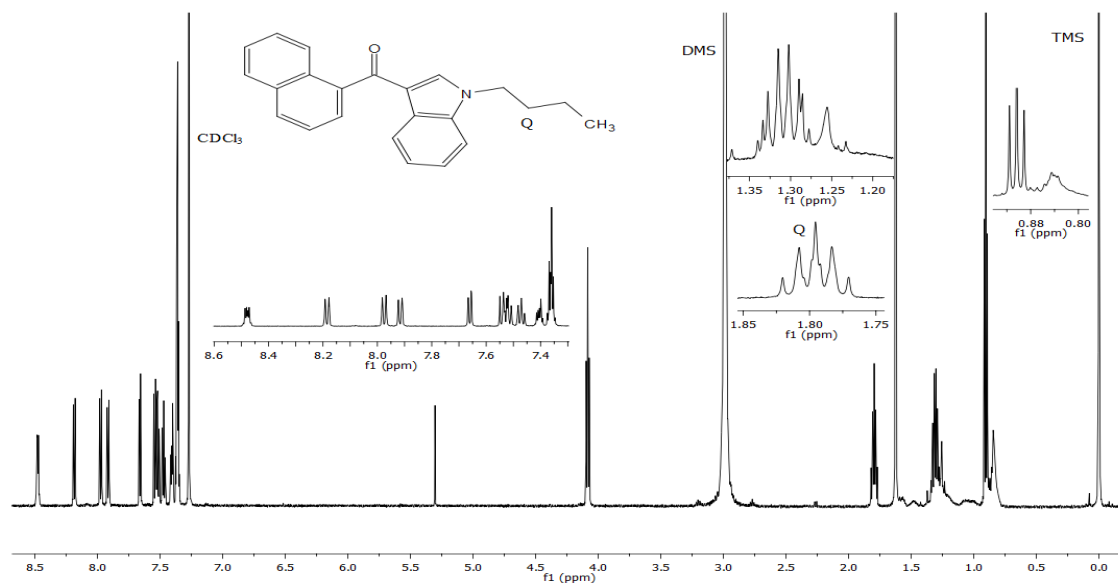
### 3. Exercício 2/2016

#### 3.1 SM1 – Cocaína



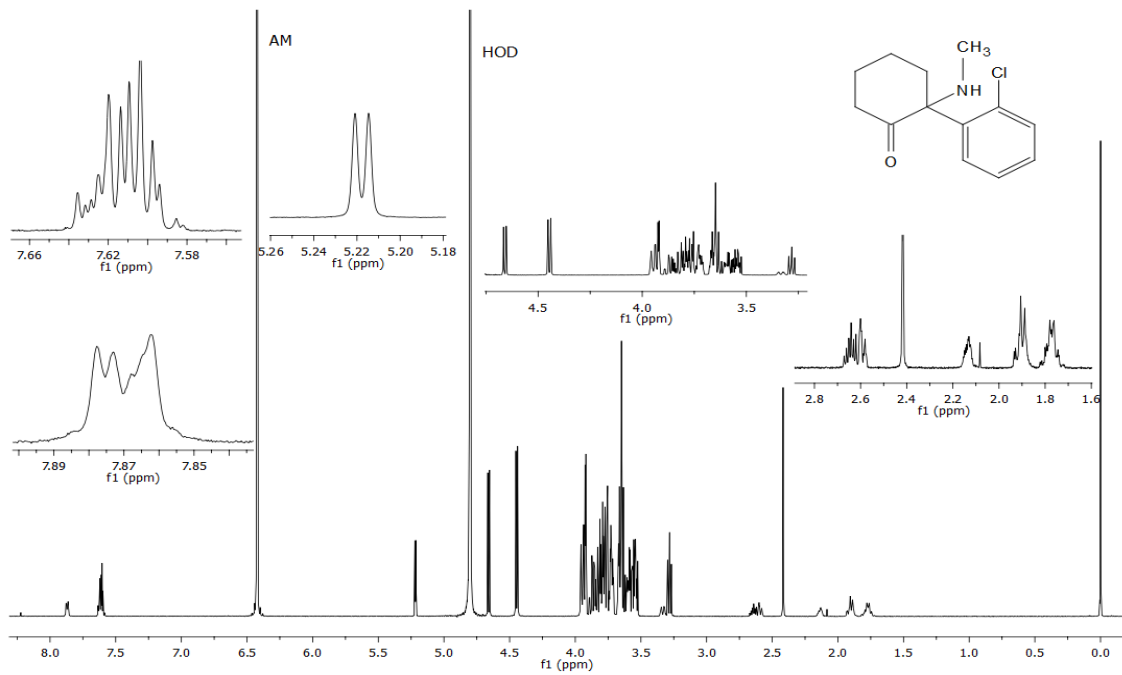
**Figura 41** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra Cocaína (código SM1) do exercício 2/2016 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

#### 3.2. SM2 – JWH-073



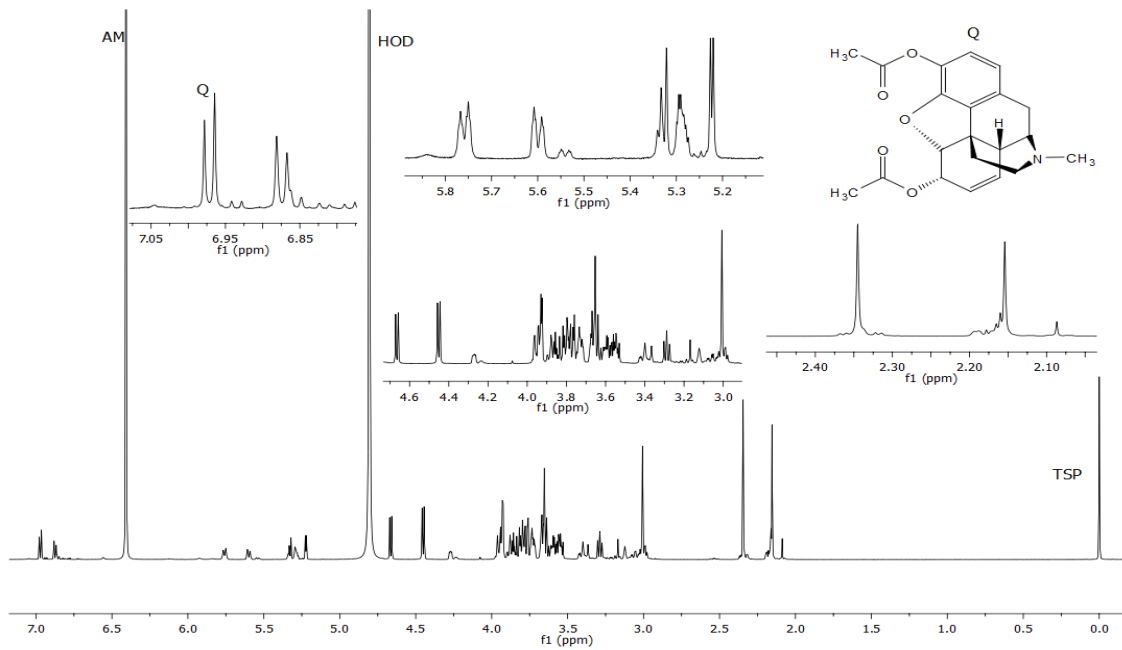
**Figura 42** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra JWH-073 (código SM2) do exercício 2/2016 da UNODC em solvente  $\text{CDCl}_3$  à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

### 3.3 SM3 – Cetamina



**Figura 43** - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) da amostra Cetamina (código SM3) do exercício 2/2016 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

### 3.4. SM4 – Heroína

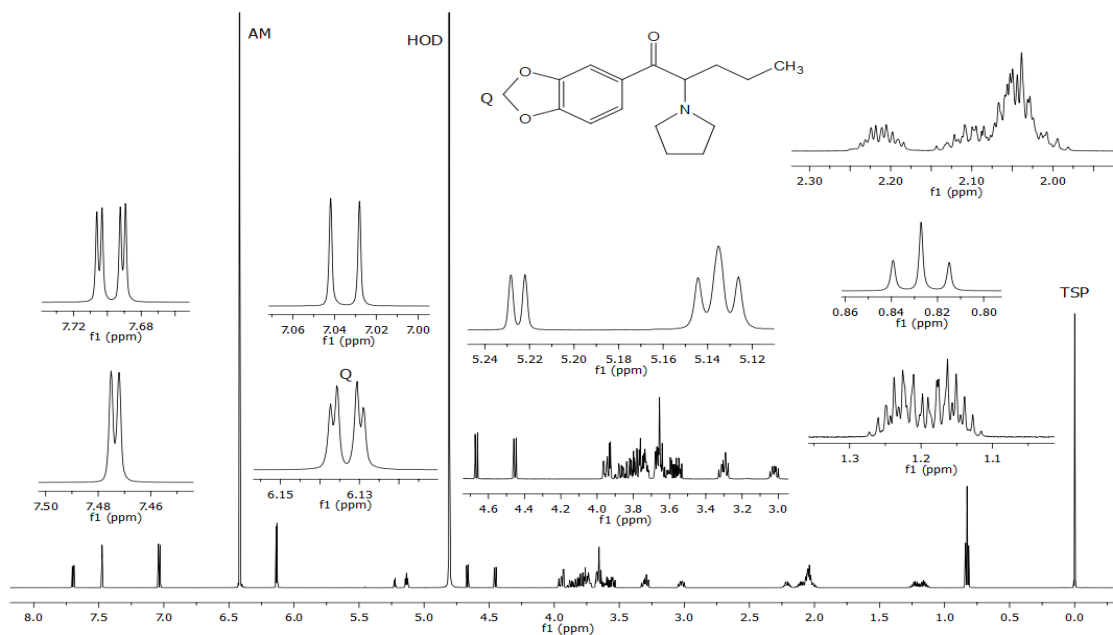


**Figura 44** - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) da amostra Heroína (código SM4) do exercício 2/2016 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

## ANEXO D

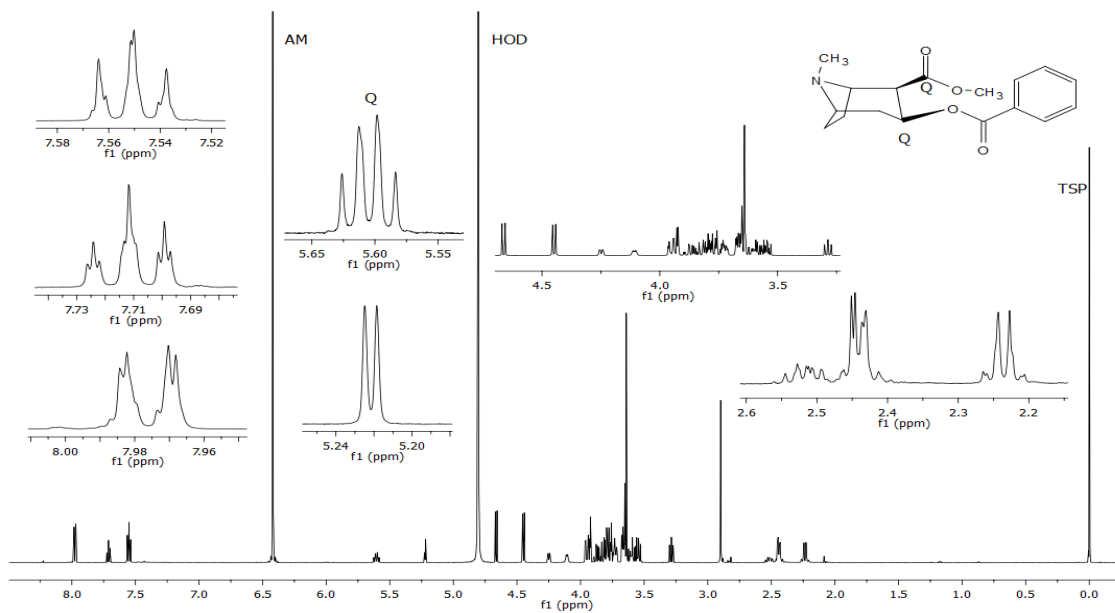
### 4. Exercício 1/2017

#### 4.1. SM1 – MDPV



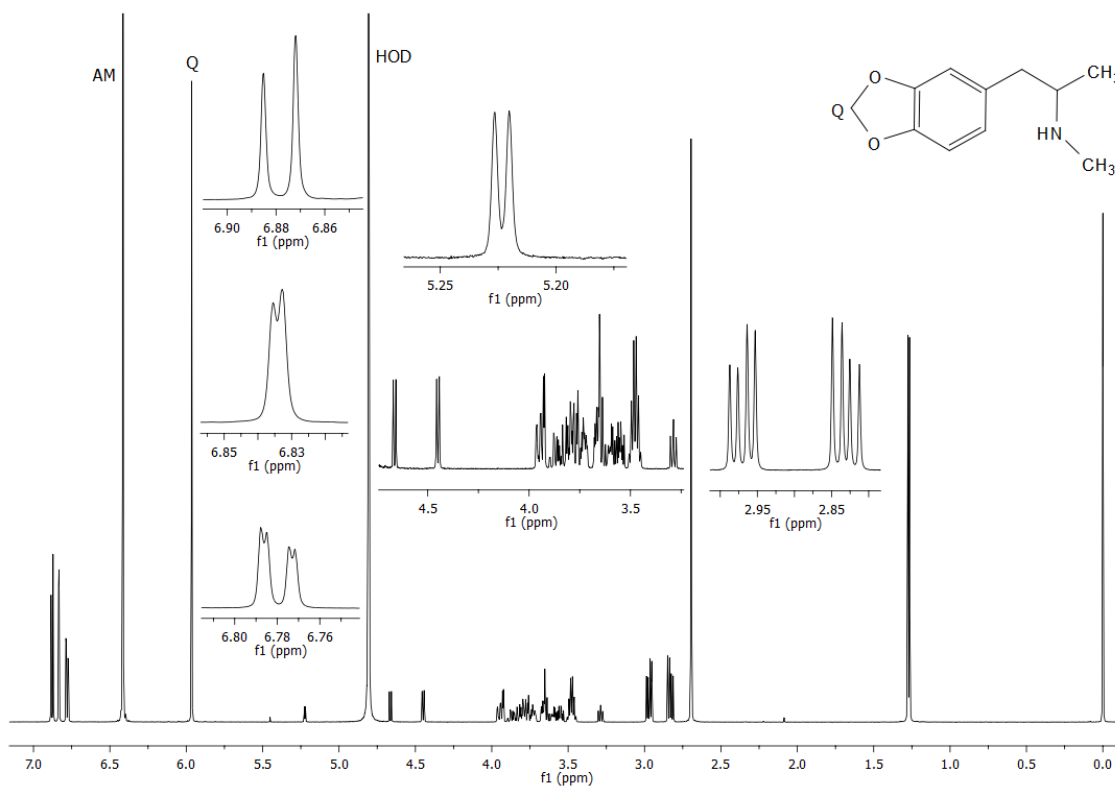
**Figura 45** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra MDPV (código SM1) do exercício 1/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

## 4.2. SM2 - Cocaína



**Figura 46** - E Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra Cocaína (código SM2) do exercício 1/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

## 4.3. SM3 – MDMA



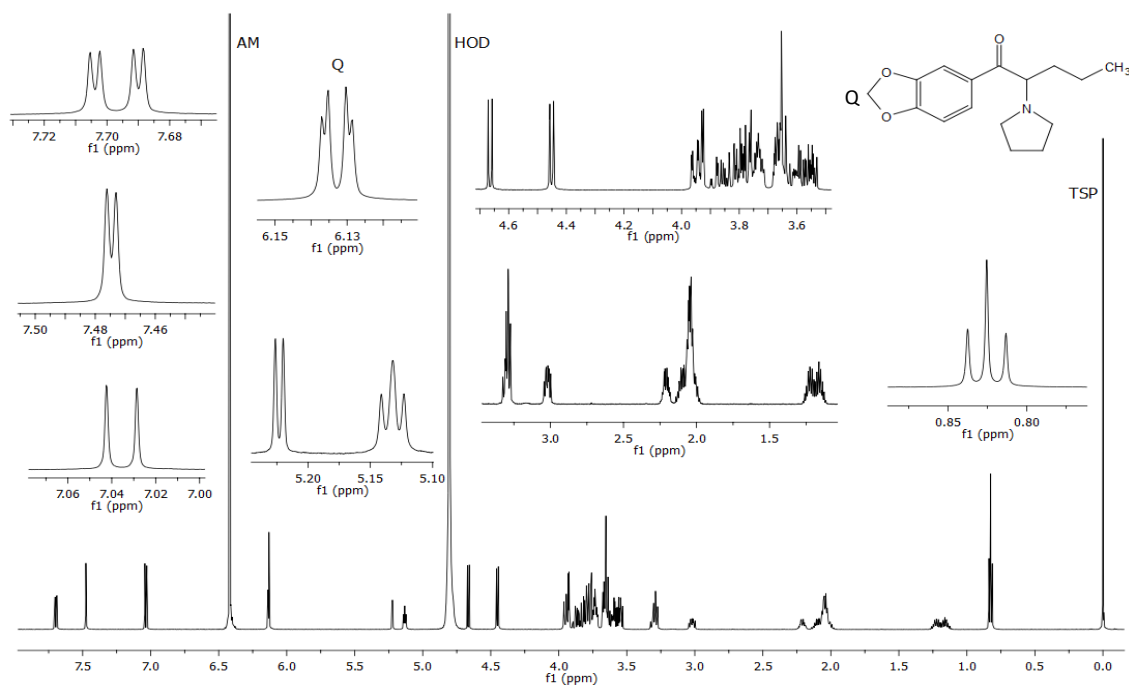
**Figura 47** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra MDMA (código SM3) do exercício 1/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito



## ANEXO E

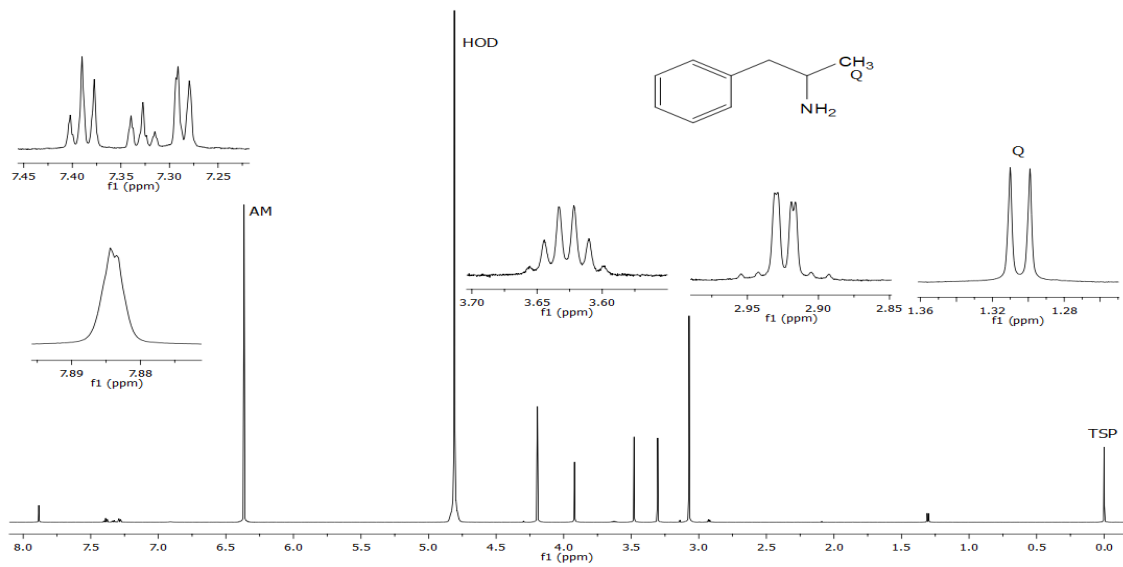
### 5. Exercício 2/2017

#### 5.1. SM1 – MDPV



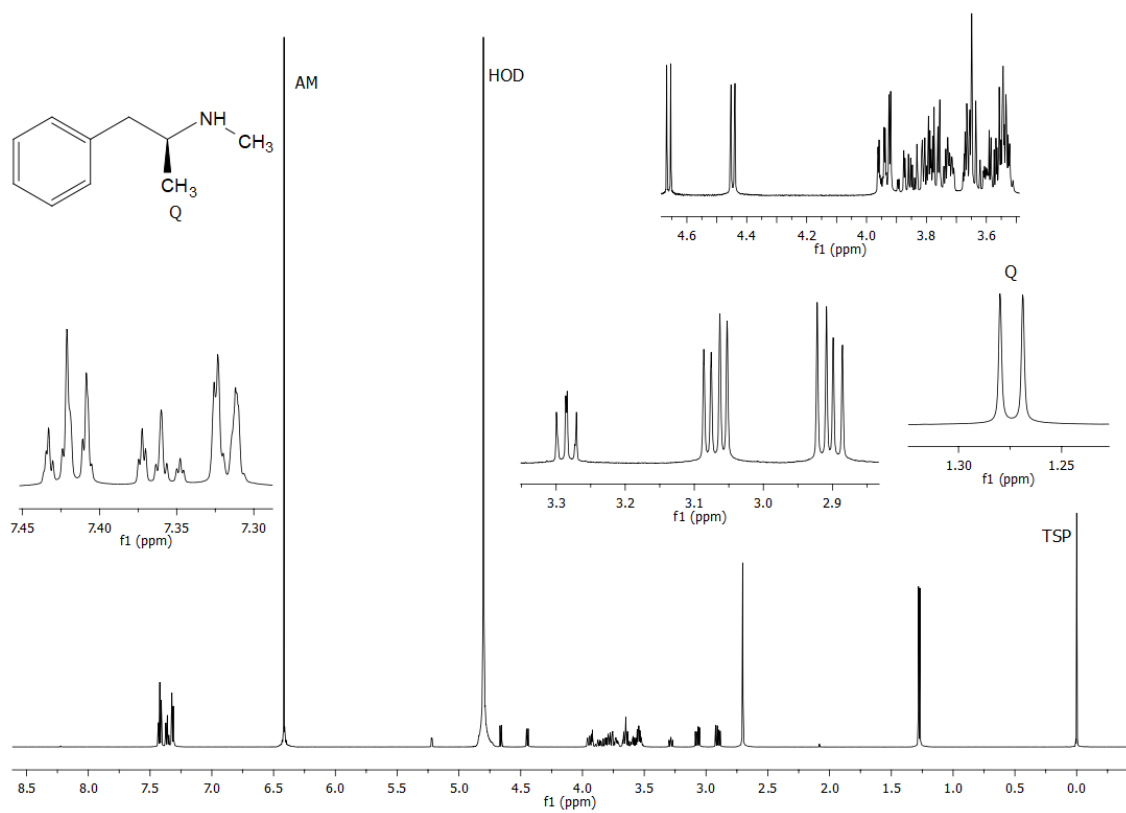
**Figura 48** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra MDPV (código SM1) do exercício 2/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

## 5.2. SM2 – Anfetamina



**Figura 49** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra Anfetamina (código SM2) do exercício 2/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

## 5.3. SM3 – Metanfetamina

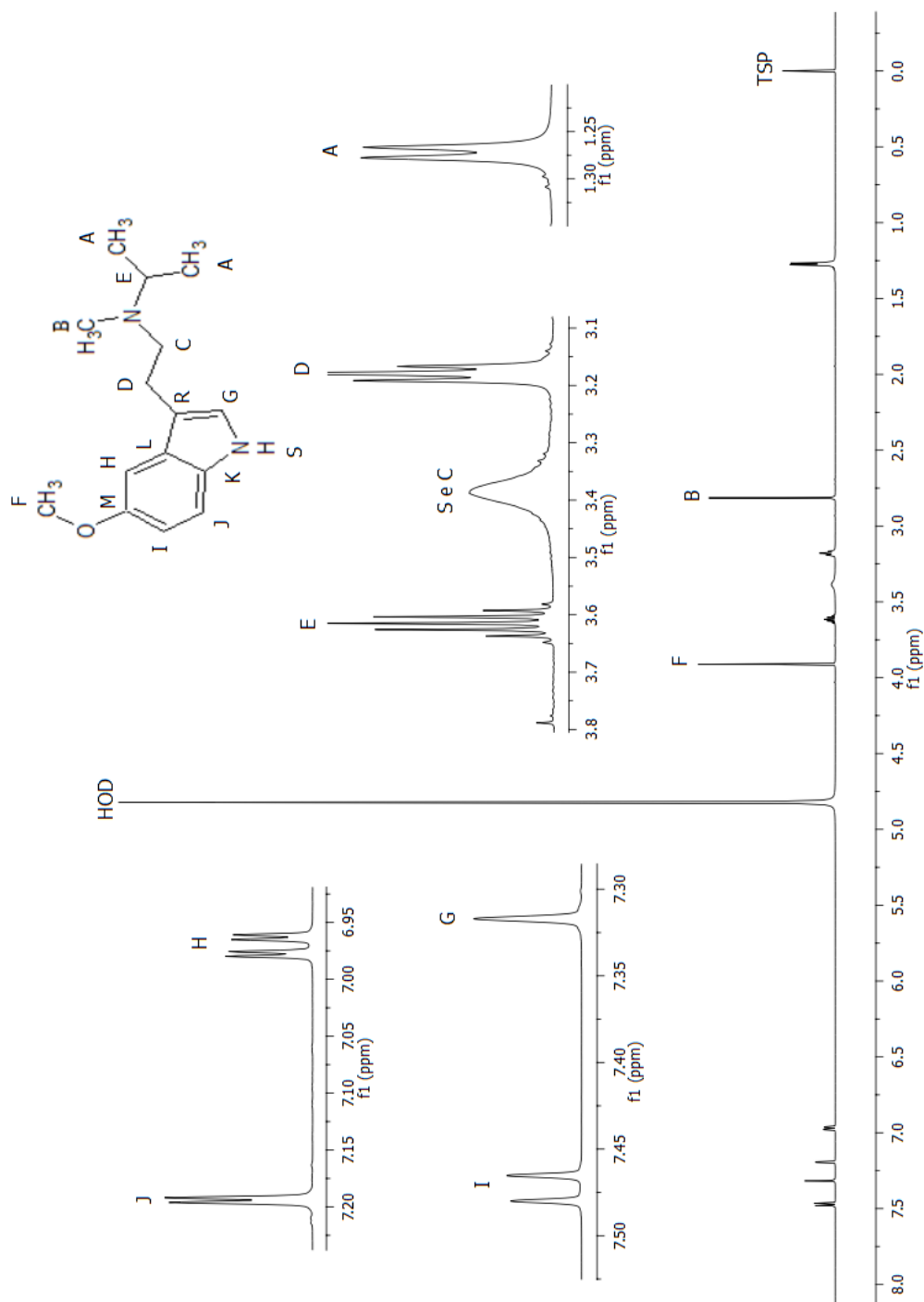


**Figura 50** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) da amostra Metanfetamina (código SM3) do exercício 2/2017 da UNODC em solvente HOD à 25°C. A letra Q indica o sinal utilizado na quantificação do analito

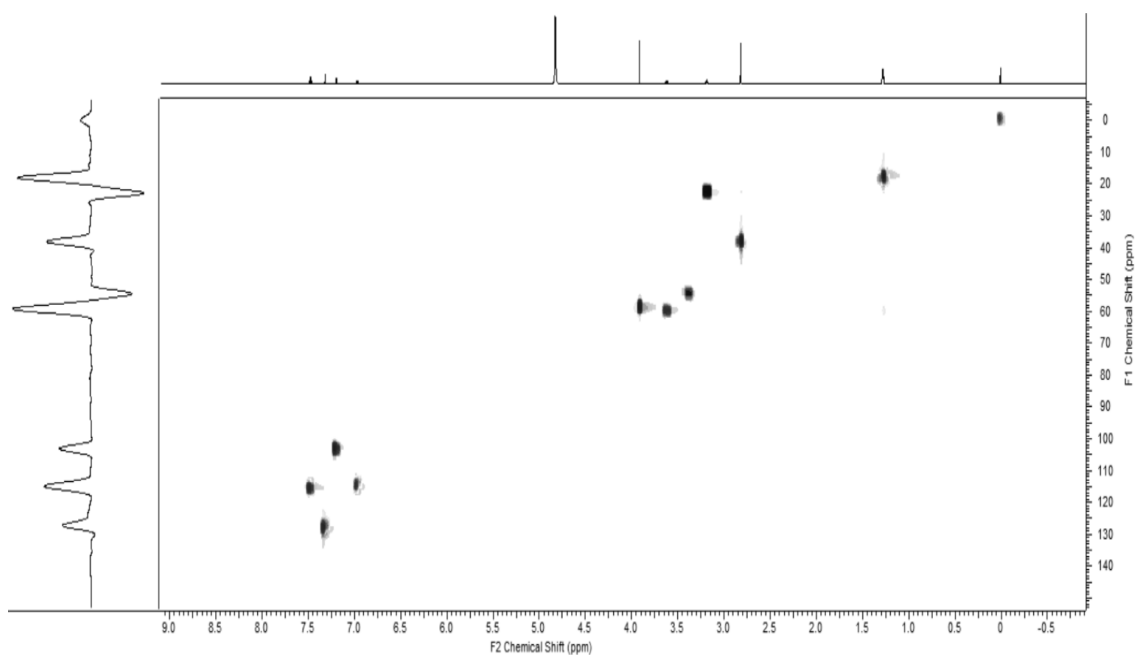
## ANEXO F

### Triptaminas

#### F.1 5-MeO-MiPT



**Figura 51** Estrutura molecular e espectro de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 5-MeO-MiPT em D<sub>2</sub>O e sem adição de padrão interno (AM) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.

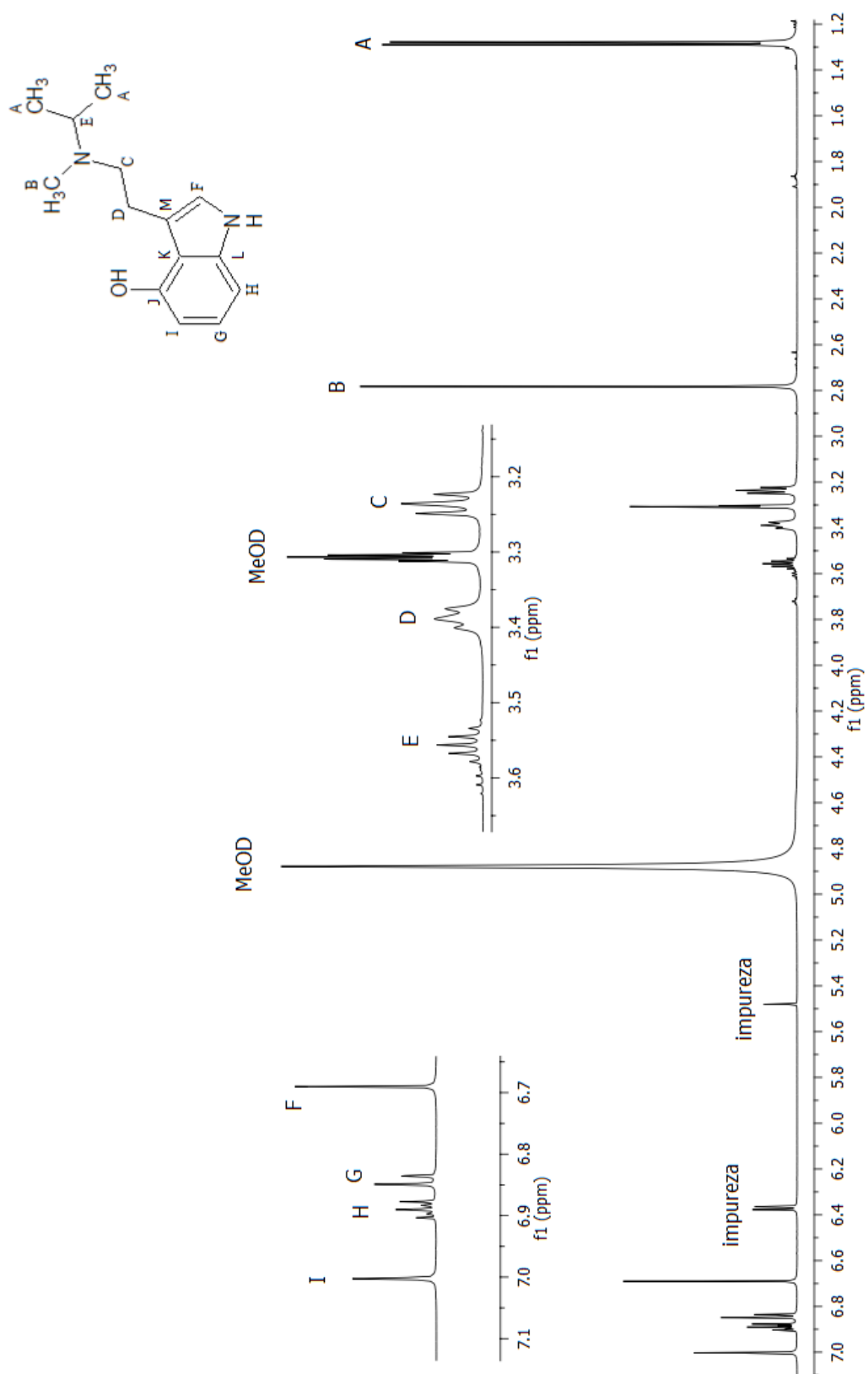


**Figura 52** - Estrutura molecular e espectro de RMN de HSQC  $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto 5-MeO-MiPT em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

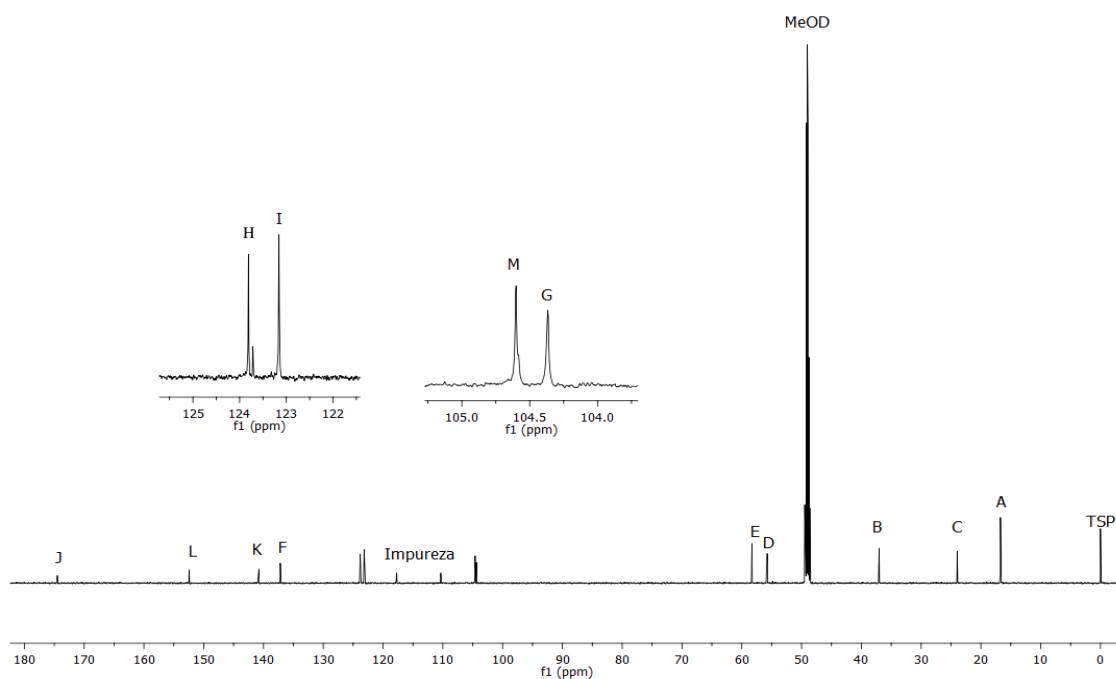
**Tabela 18** Tabela de atribuição dos sinais da substância 5-MeO-MiPT

5-MeO-MiPT					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	DEPT-135	Atribuição
1,27	duplete	6H	18,1	$\text{CH}_3$	A
2,81	simpleto	3H	38,2	$\text{CH}_3$	B
3,18	triplete	2H	23,0	$\text{CH}_2$	D
3,38	simpleto	2H	54,5	$\text{CH}_2$	C
3,61	septeto	1H	59,2	CH	E
3,91	simpleto	3H	59,2	$\text{CH}_3$	F
6,97	duplo duplete	1H	115,1	CH	H
7,19	duplete	1H	103,4	CH	J
7,32	simpleto	1H	127,4	CH	G
7,47	duplete	1H	115,1	CH	I

## F.2 4-HO-MiPT



**Figura 53** Estrutura molecular e espectro de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 4-HO-MiPT em MeOD e sem adição de padrão interno, adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.



**Figura 54** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto 4-HO-MiPT em MeOD e sem adição de padrão interno, adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.

**Tabela 19** - Tabela de atribuição de sinais da substância 4-HO-MiPT

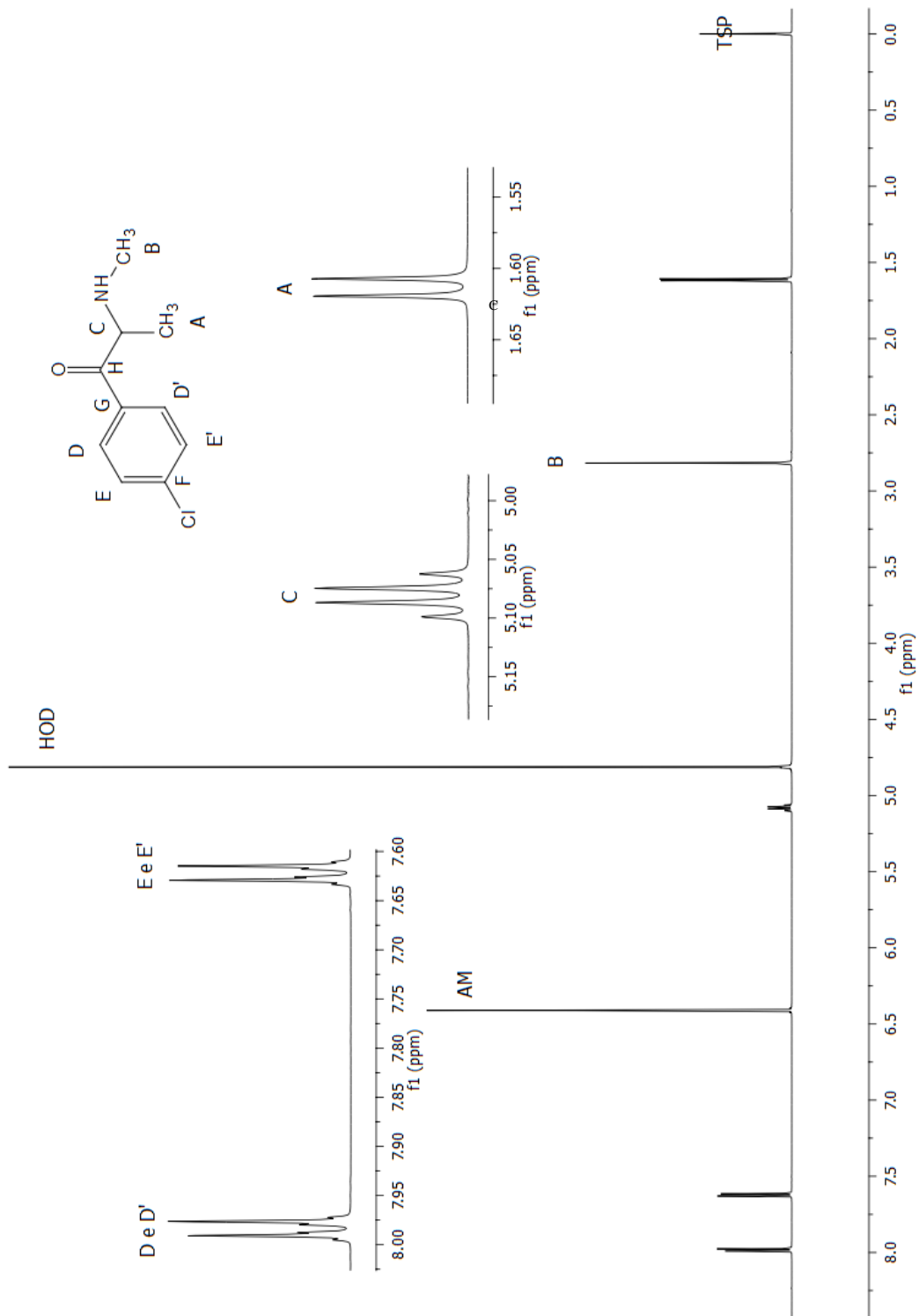
4-HO-MiPT					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	DEPT-135	Atribuição
1,29	duplete	6H	16,7	CH <sub>3</sub>	A*
2,78	simpleto	3H	37,0	CH <sub>3</sub>	B
3,24	triplete	2H	24,0	CH <sub>2</sub>	C
3,39	triplete	2H	55,7	CH <sub>2</sub>	D
3,56	septeto	1H	58,3	CH	E
6,69	simpleto	1H	137,2	CH	F
6,85	duplo duplete	1H	104,4	CH	G
6,89	multiplete	1H	123,8	CH	H
7,00	simpleto	1H	123,1	CH	I
			104,6	Quaternário	M
			140,8	Quaternário	K
			152,4	Quaternário	L
			174,5	Quaternário	J

\* Foi observado que no espectro contendo padrão interno o sinal foi desdobrado para dois dupletos. O que pode ser entendido como resultado da interação da amostra com o padrão interno, causando uma restrição na rotação da ligação N-CH, gerando distinção nos ambientes químicos das metilas.

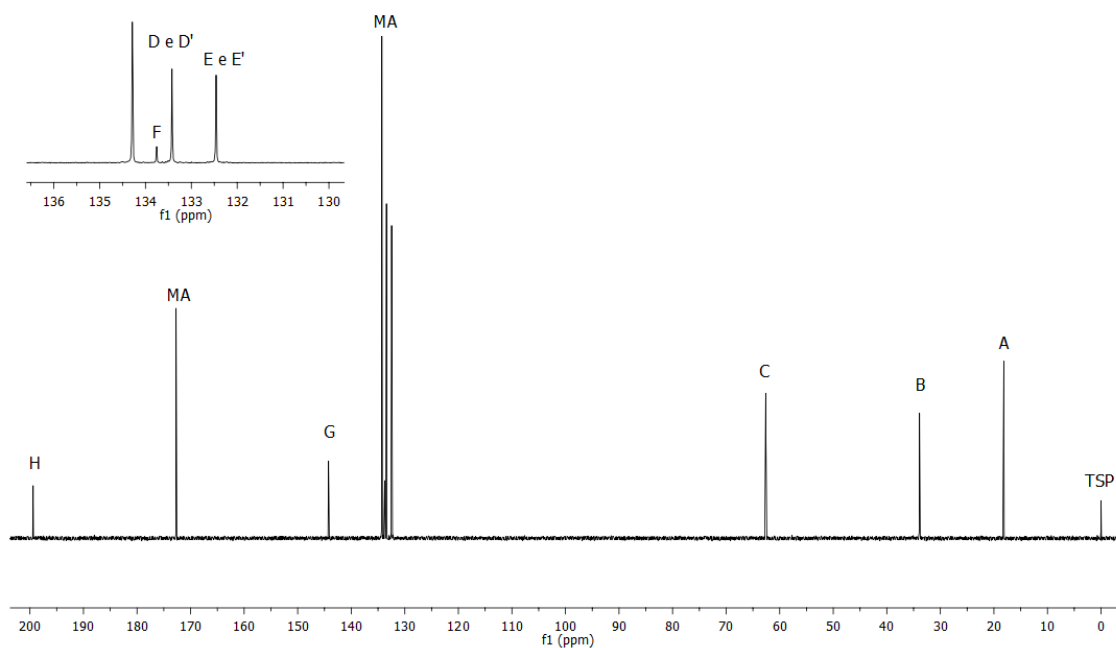
## ANEXO G

### Catíonons sintéticas

#### G.1 4-CMC



**Figura 55** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 4-CMC em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.



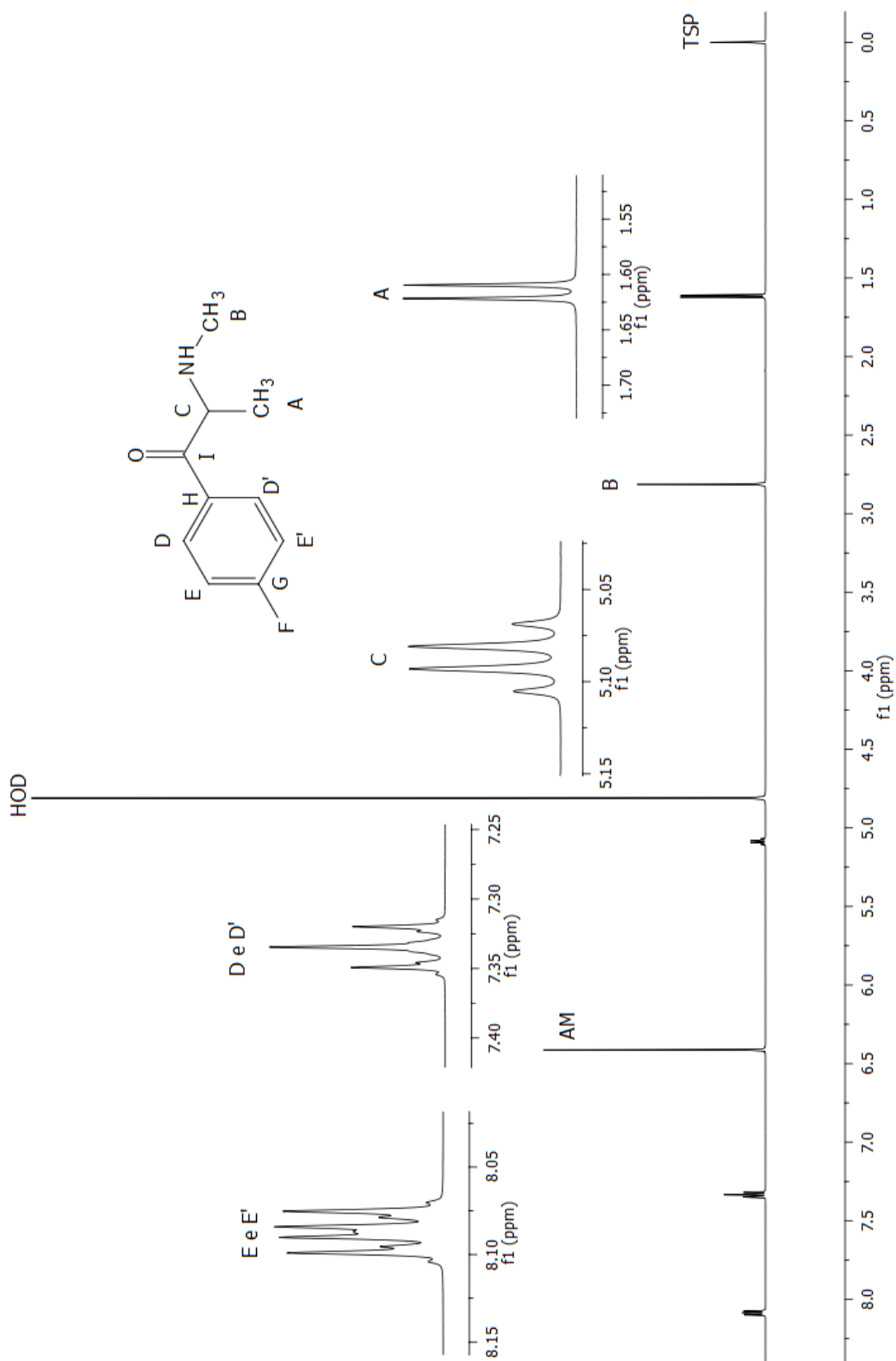
**Figura 56** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto 4-CMC em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

**Tabela 20** - Tabela de atribuição dos sinais da substância 4-CMC

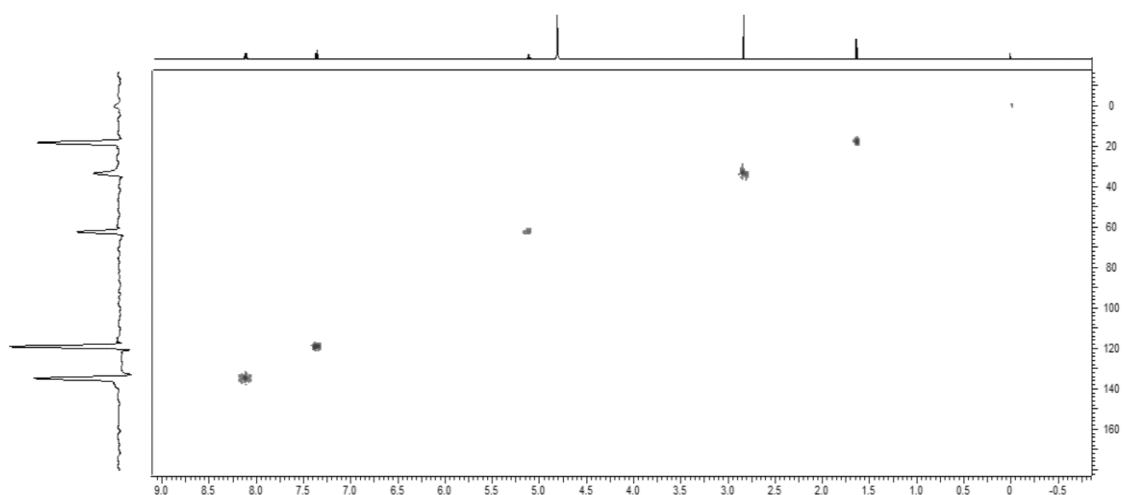
4-CMC					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	DEPT-135	Atribuição
1,61	duplete	3H	18,2	$\text{CH}_3$	A
2,82	simpleto	3H	33,9	$\text{CH}_3$	B
5,09	quarteto	1H	62,6	CH	C
7,63	duplo duplete	2H	132,5	CH	E e E'
7,99	duplo duplete	2H	133,4	CH	D e D'
			133,8	quaternário	F
			144,2	quaternário	G
			199,4	quaternário	H



G.2 4-FMC



**Figura 57** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 4-FMC em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM), adquirido  25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.

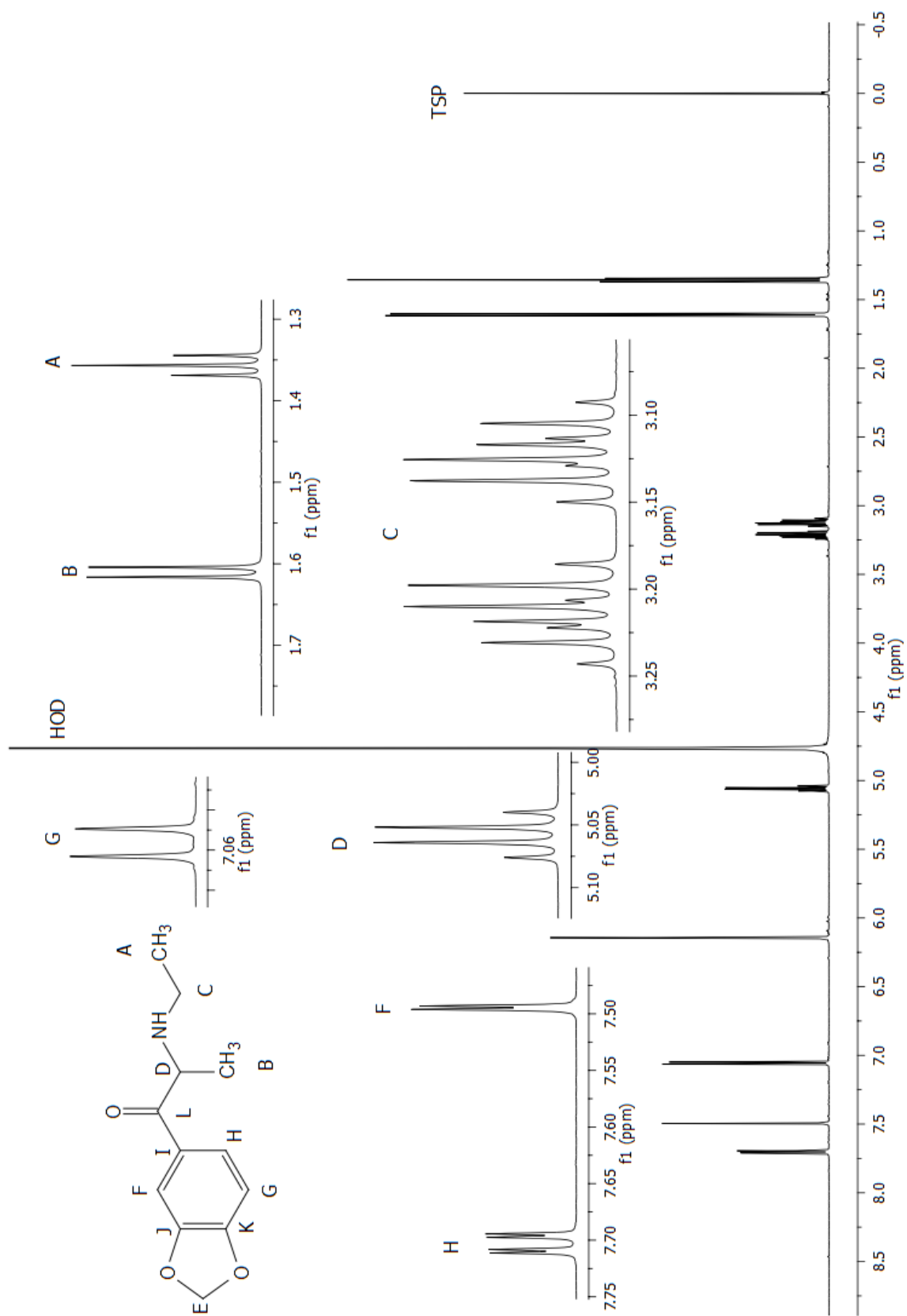


**Figura 58** - Estrutura molecular e espectro de RMN de HSQC  $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto 4-FMC em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

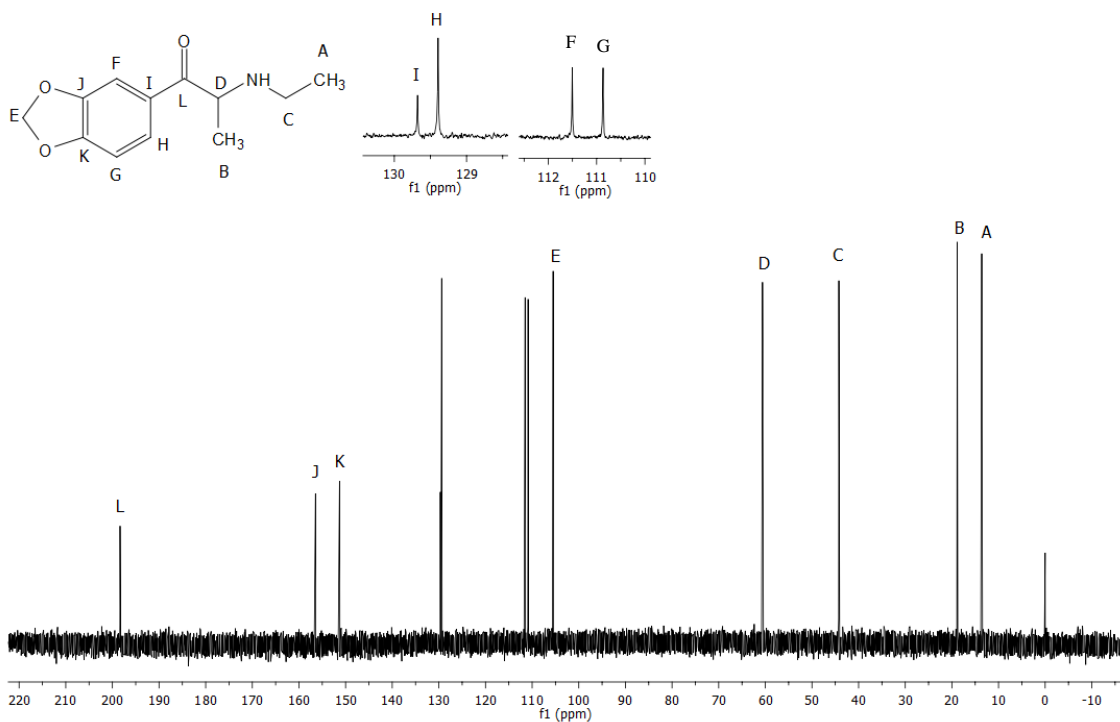
**Tabela 21** - Tabela de atribuição dos sinais da substância 4-FMC

4-FMC					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	J (Hz)	Atribuição
1,64	duplete	3H	18,2	7,34	A
2,83	simpleto	3H	33,6		B
5,11	quarteto	1H	62,5	7,34	C
7,36	multiplete	2H	119,4		D e D'
8,11	multiplete	2H	135,1		E e E'
			131,8		H
			169,4		G
			199,0		I

### G.3 Etilona



**Figura 59** Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto Etilona em  $\text{D}_2\text{O}$  e sem adição de padrão interno (AM), adquirido  25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.



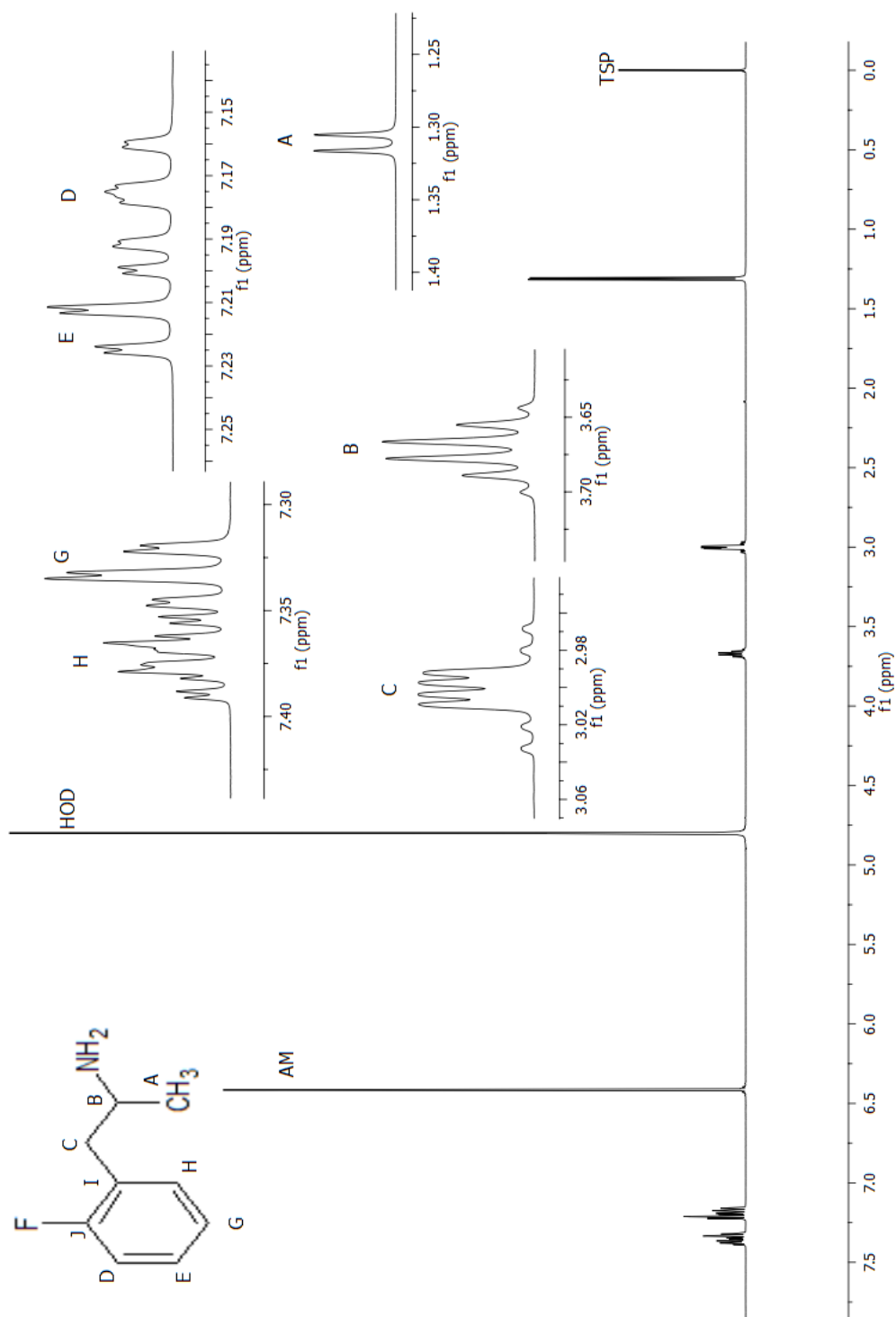
**Figura 60** Estrutura molecular e espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto Etilona em  $\text{D}_2\text{O}$  e sem adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

**Tabela 22** Tabela de atribuição dos sinais da substância Etilona

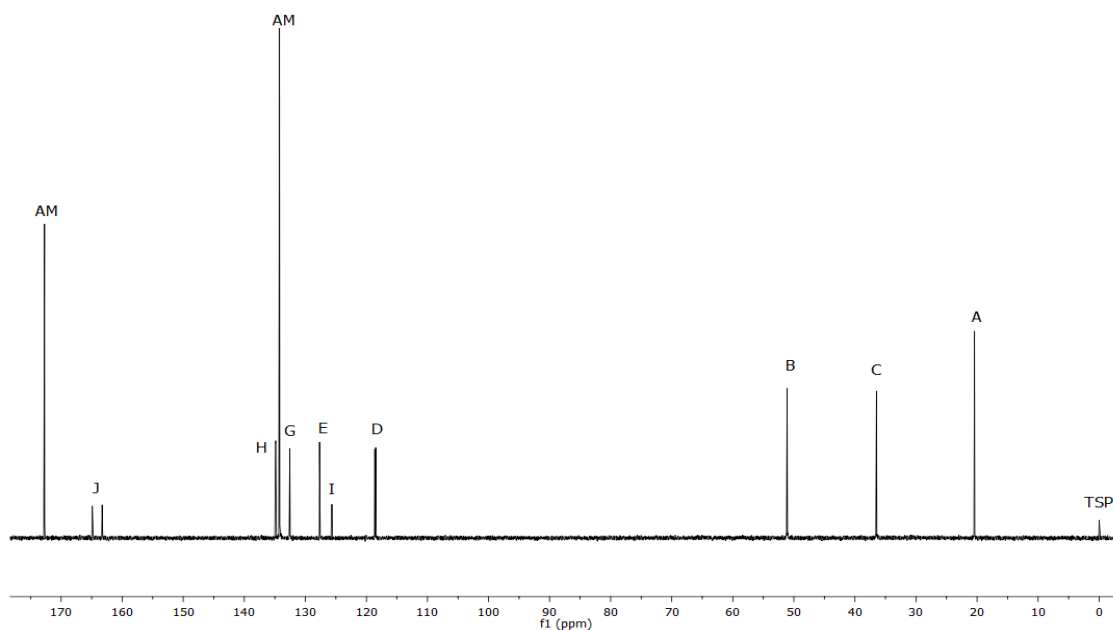
Etilona					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	DEPT-135	Atribuição
1,36	triplete	3H	13,6	$\text{CH}_3$	A
1,61	duplete	3H	18,9	$\text{CH}_3$	B
3,12	duplo quarteto	1H	44,2	$\text{CH}_2$	C
3,22	duplo quarteto	1H	44,2	$\text{CH}_2$	C
5,06	quarteto	1H	60,6	CH	D
6,15	duplo duplete	2H	105,5	CH	E
7,05	duplete	1H	111,5	CH	F
7,50	duplete	1H	110,9	CH	G
7,71	duplo duplete	1H	129,4	CH	H
			129,7	Quaternário	I
			151,3	Quaternário	K
			156,4	Quaternário	J
			198,4	Quaternário	L

## Fenetilaminas

## H.1 2-FA



**Figura 61.** Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 2-FA em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

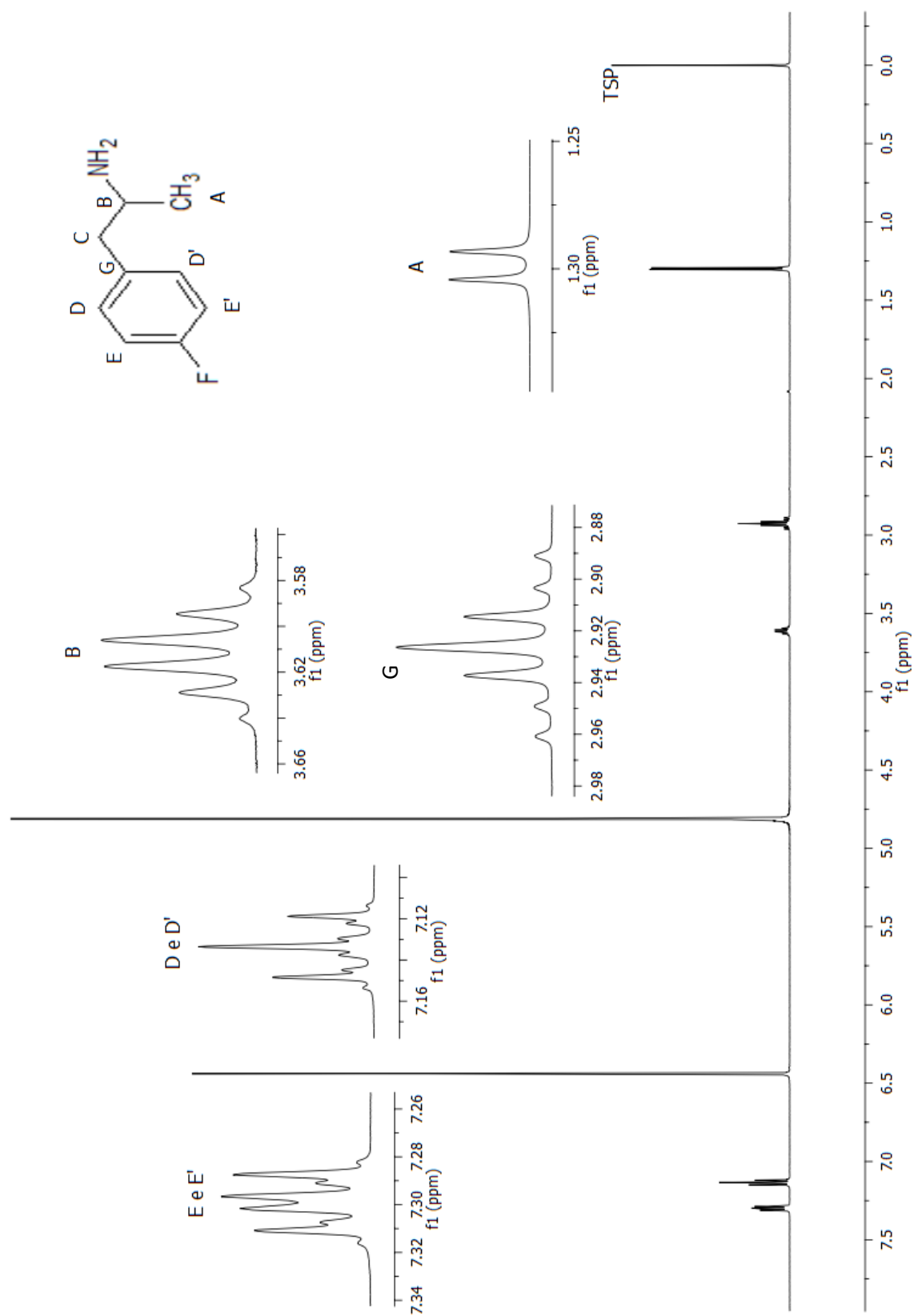


**Figura 62.** Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto 2-FA em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

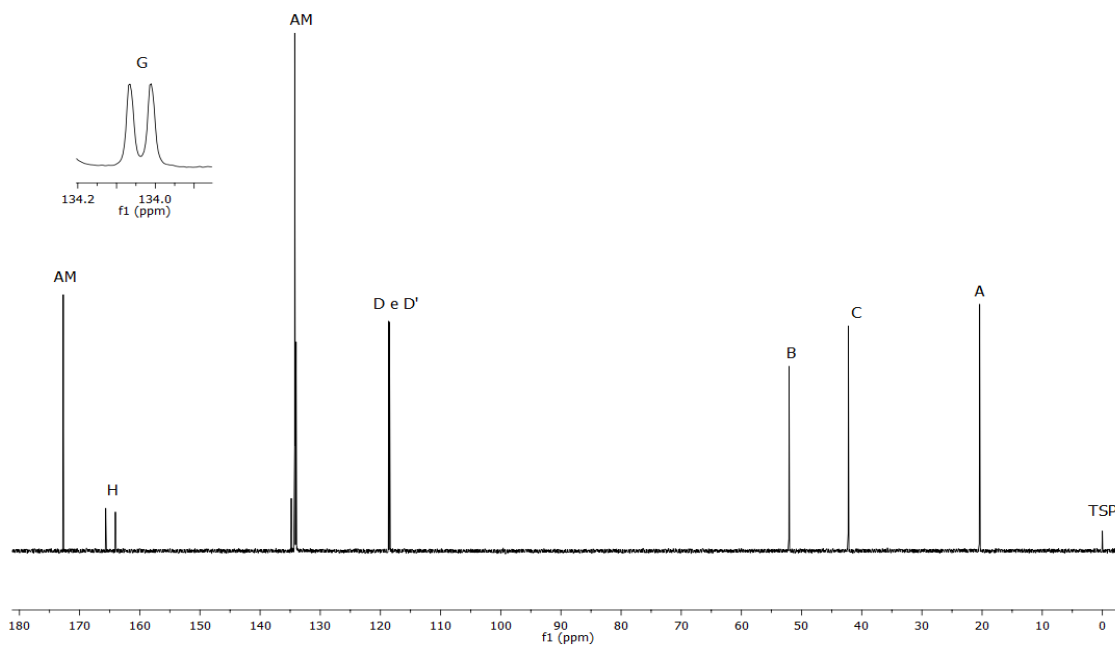
**Tabela 23.** Atribuição de sinais da substância 2-FA em HOD à  $25^\circ\text{C}$ .

2-FA					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	DEPT-135	Atribuição
1,31	duplete	3H	20,4	$\text{CH}_3$	A
3,00	duplo duplete	2H	36,5	$\text{CH}_2$	C
3,68	sexteto	1H	51,1	CH	B
7,17	Duplo duplo duplete	1H	118,5	CH	D
7,21	triplo duplete	1H	127,7	CH	E
7,34	triplo duplete	1H	132,5	CH	G
7,38	multiplete	1H	134,9	CH	H
			125,6	Quaternário	I
			163,3	Quaternário	J
			164,9	Quaternário	J

## H.2 4-FA



**Figura 63** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 4-FA em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.



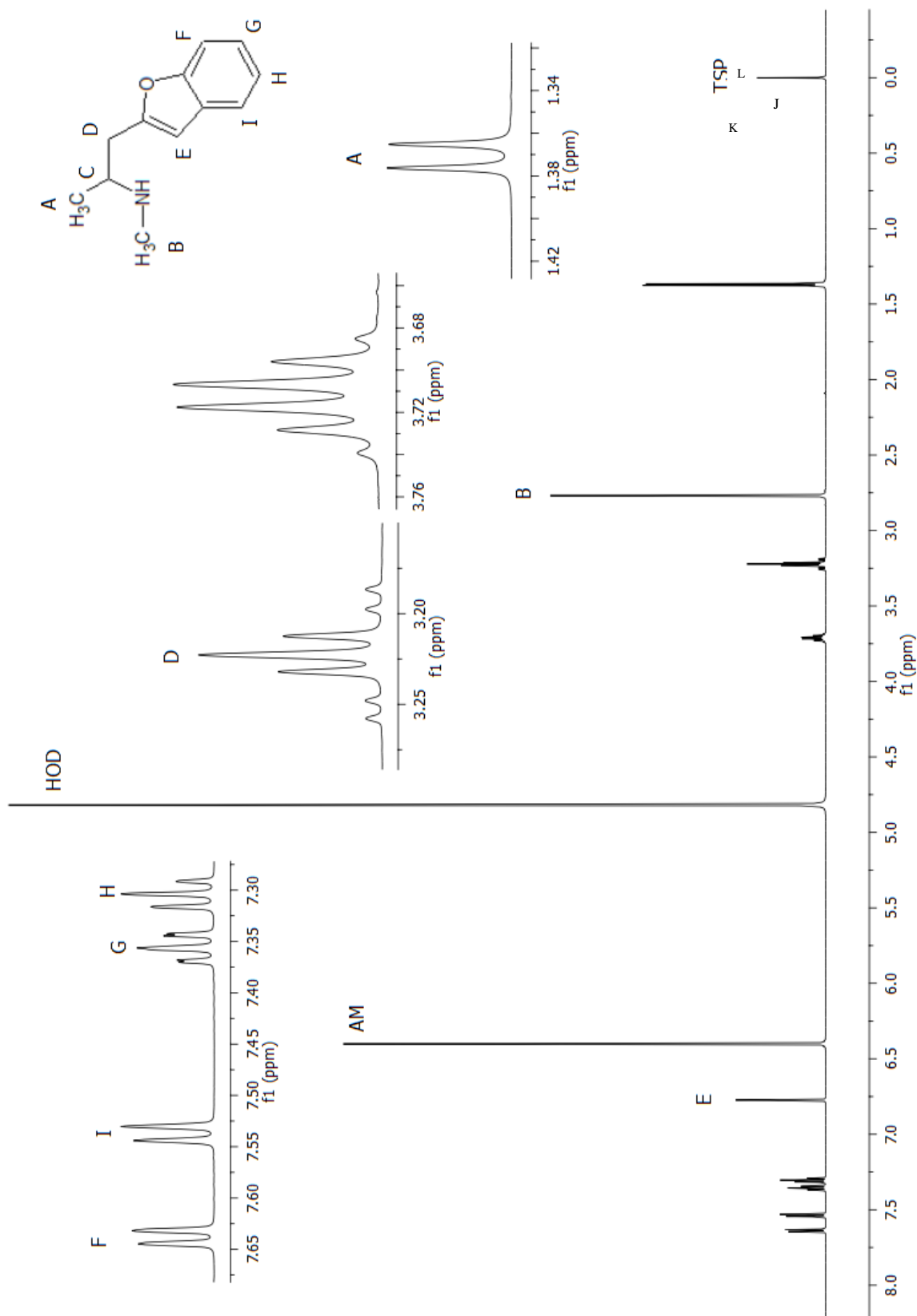
**Figura 64** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto 4-FA em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

**Tabela 24** - Tabela de atribuição de sinais da substância 4-FA

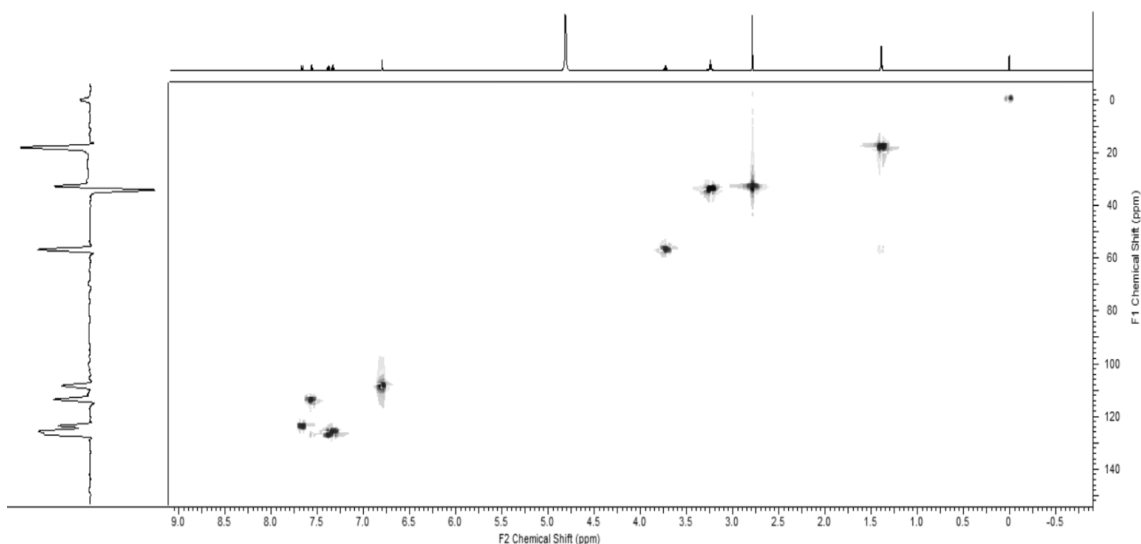
4-FA					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	DEPT-135	Atribuição
1,31	duplete	3H	20,4	$\text{CH}_3$	A
2,93	multiplete	2H	42,2	$\text{CH}_2$	C
3,62	sexteto	1H	52,1	CH	B
7,13	triplo tripleto	2H	118,6	CH	D e D'
7,30	multiplete	2H	134,1	CH	E e E'
			134,8	Quaternário	G
			164,1	Quaternário	H
			165,7	Quaternário	H



### H.3 2-MAPB



**Figura 65** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 2-MAPB em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

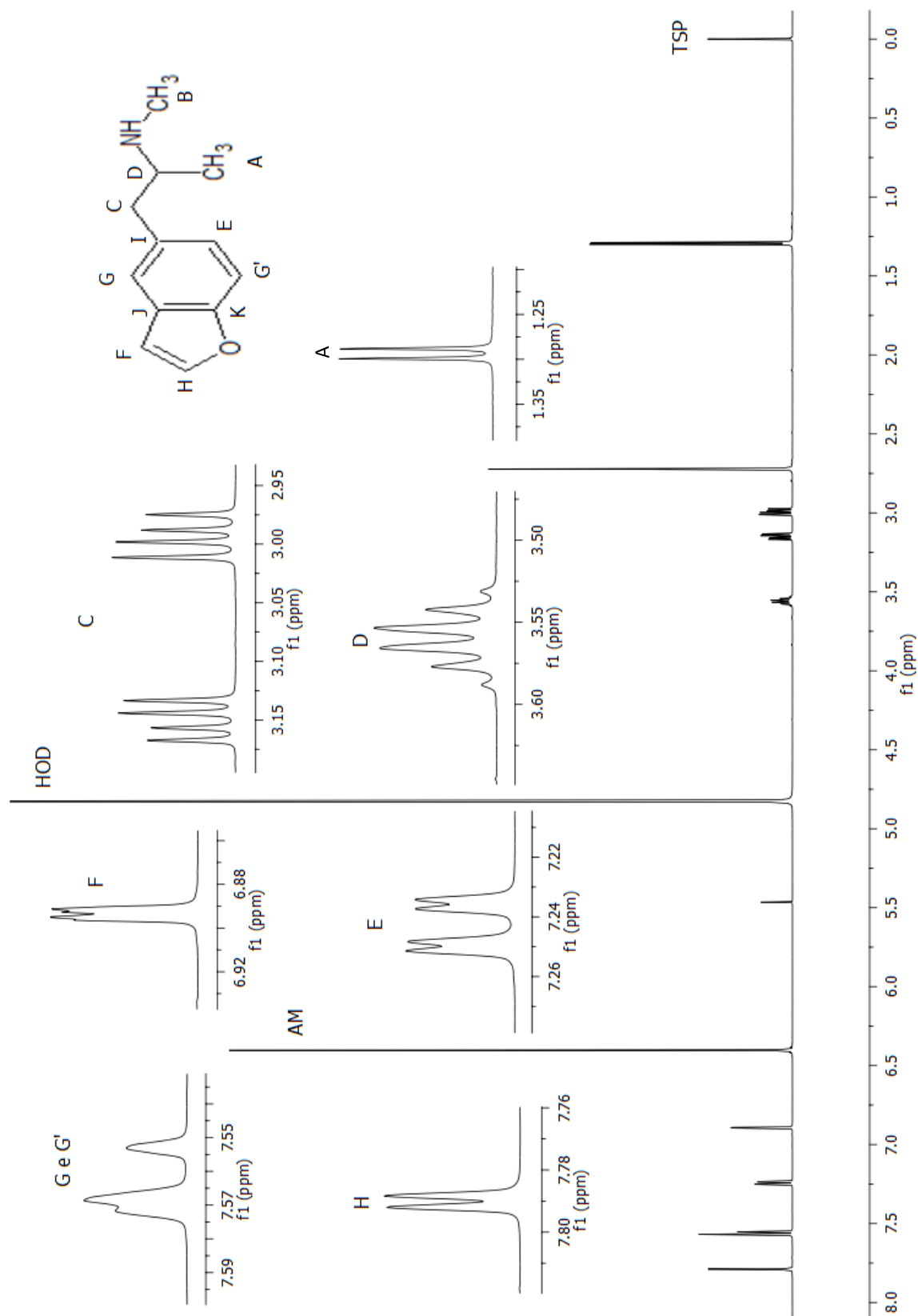


**Figura 66** - Estrutura molecular e espectro de RMN de HSQC editado  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto 2-MAPB em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

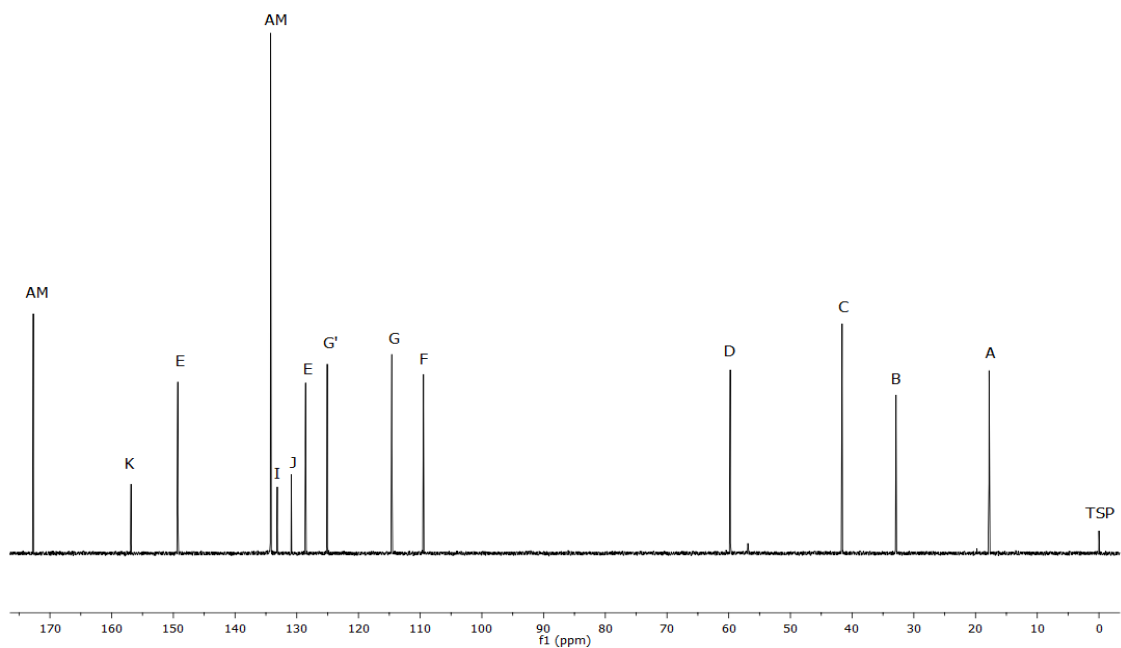
**Tabela 25** - Tabela de atribuição dos sinais da substância 2-MAPB

2-MAPB					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	DEPT-135	Atribuição
1,38	duplete	3H	17,8	$\text{CH}_3$	A
2,78	simpleto	3H	32,6	$\text{CH}_3$	B
3,24	tripleto	2H	34,2	$\text{CH}_2$	C
3,72	sexteto	1H	56,9	CH	D
6,80	simpleto	1H	108,4	CH	E
7,56	duplo duplete	1H	113,8	CH	F
7,66	duplo duplete	1H	123,9	CH	I
7,33	triplo duplete	1H	125,9	CH	H
7,38	triplo duplete	1H	127,1	CH	G
			131,1	Quaternário	K
			155,6	Quaternário	L
			157,7	Quaternário	J

## H.4 5-MAPB



**Figura 67** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 5-MAPB em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido  25C. As letras indicam a atribuição dos sinais.

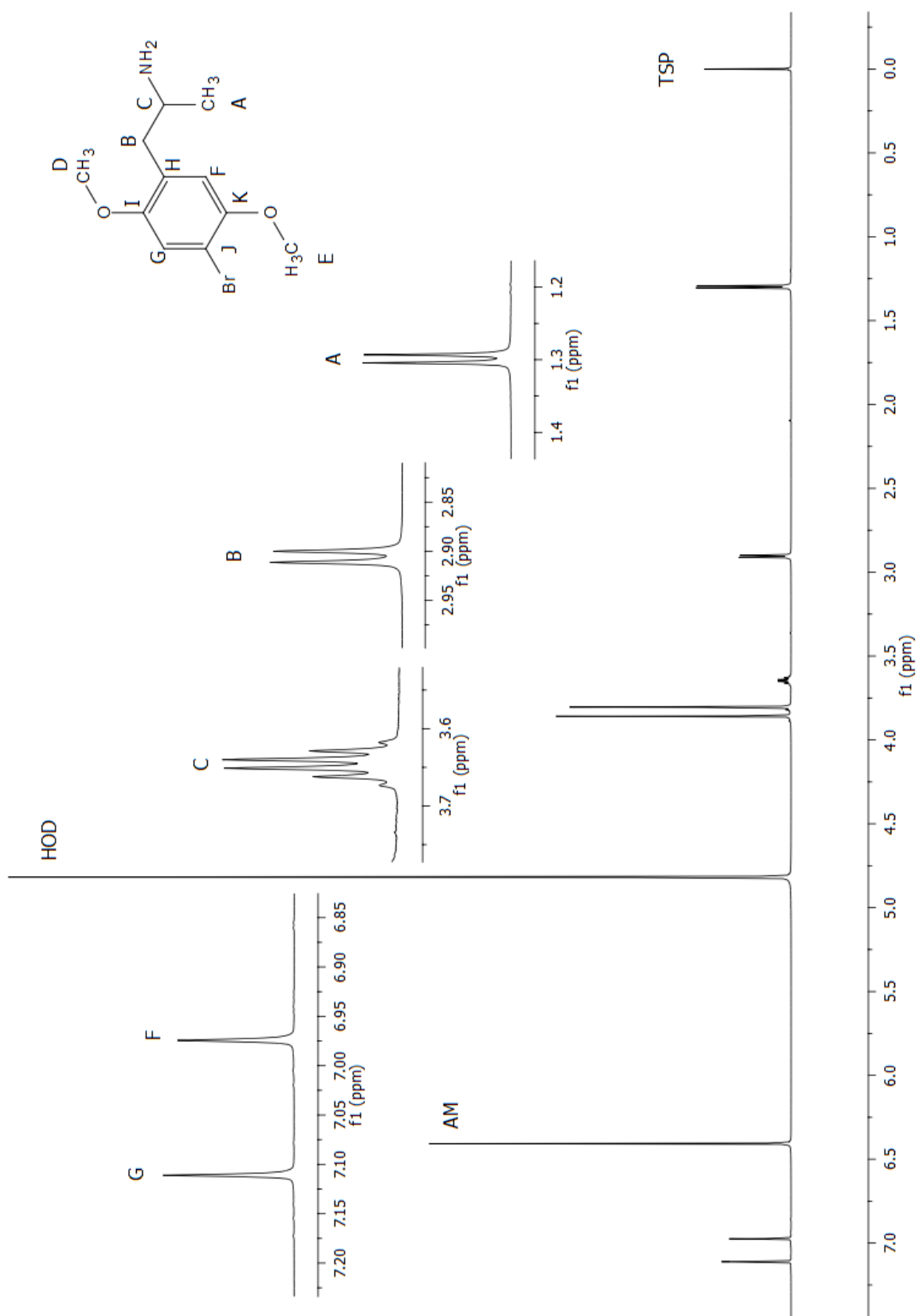


**Figura 68** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto 5-MAPB em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

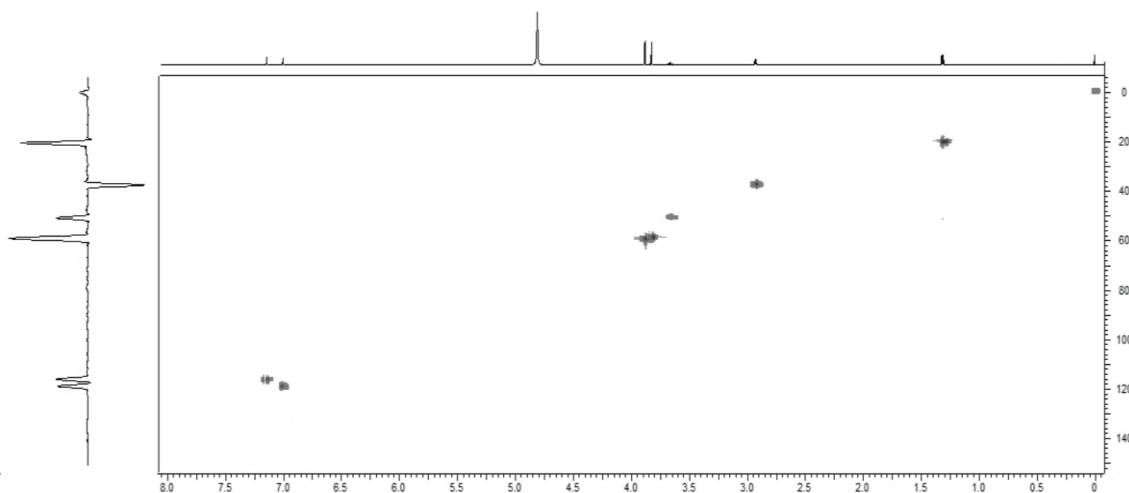
**Tabela 26** - Tabela de atribuição dos sinais da substância 5-MAPB

5-MAPB					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	DEPT-135	Atribuição
1,30	duplete	3H	17,8	$\text{CH}_3$	A
2,72	simpleto	3H	32,9	$\text{CH}_3$	B
3,00 / 3,16	duplo duplete	2H	41,6	$\text{CH}_2$	C
3,57	sexteto	1H	59,8	CH	D
6,89	duplo duplete	1H	109,5	CH	F
7,25	duplo duplete	1H	128,6	CH	E
7,57	duplete	1H	114,6	CH	G
7,57	duplete	1H	125,1	CH	G
7,79	duplete	1H	149,3	CH	H
			130,9	Quaternário	J
			133,2	Quaternário	I
			156,9	Quaternário	K

## H.5 DOC



**Figura 69** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto DOC em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido  25C. As letras indicam a atribuio dos sinais.

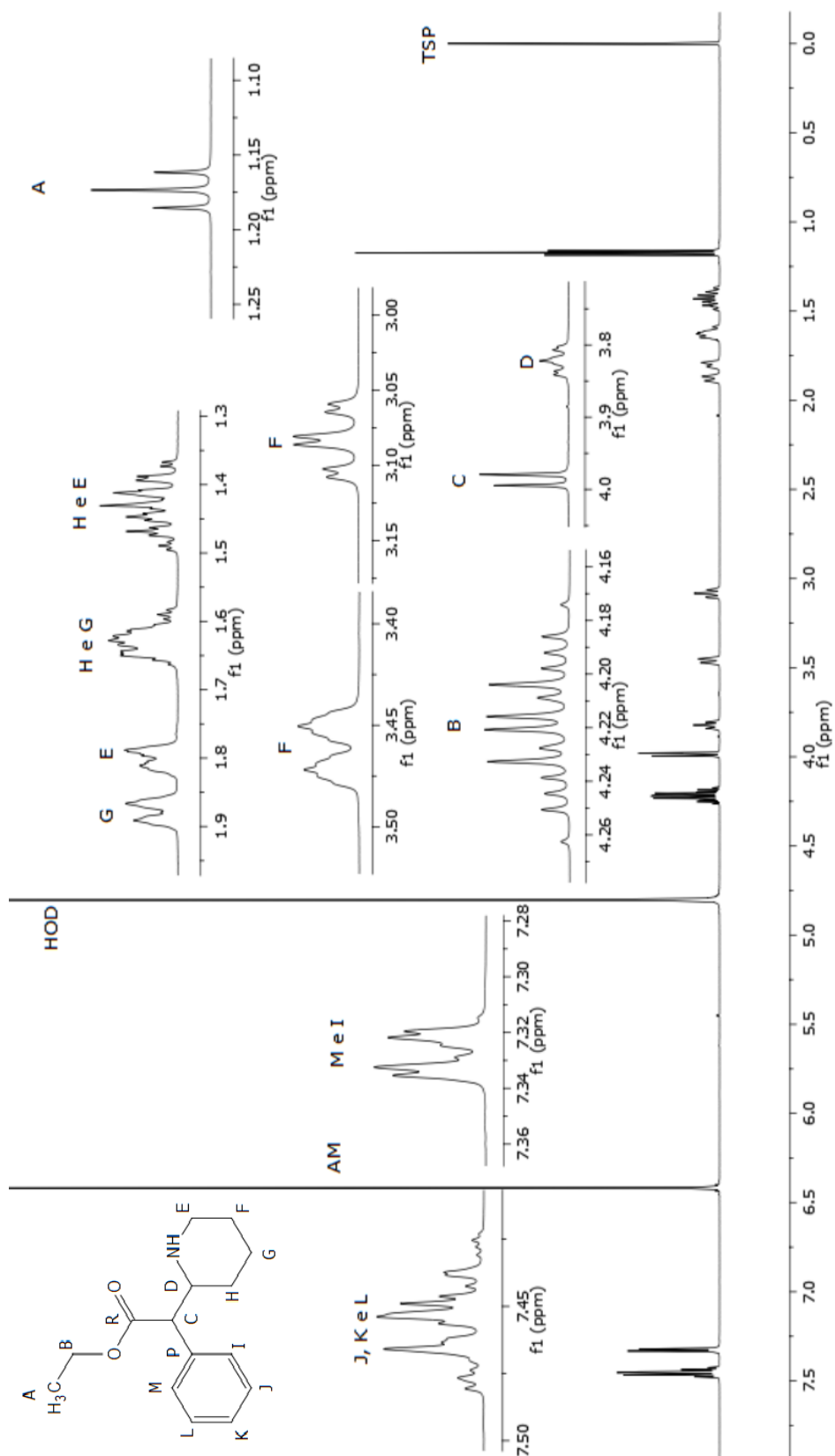


**Figura 70** - Estrutura molecular e espectro de RMN de HSQC editado  $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto DOC em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

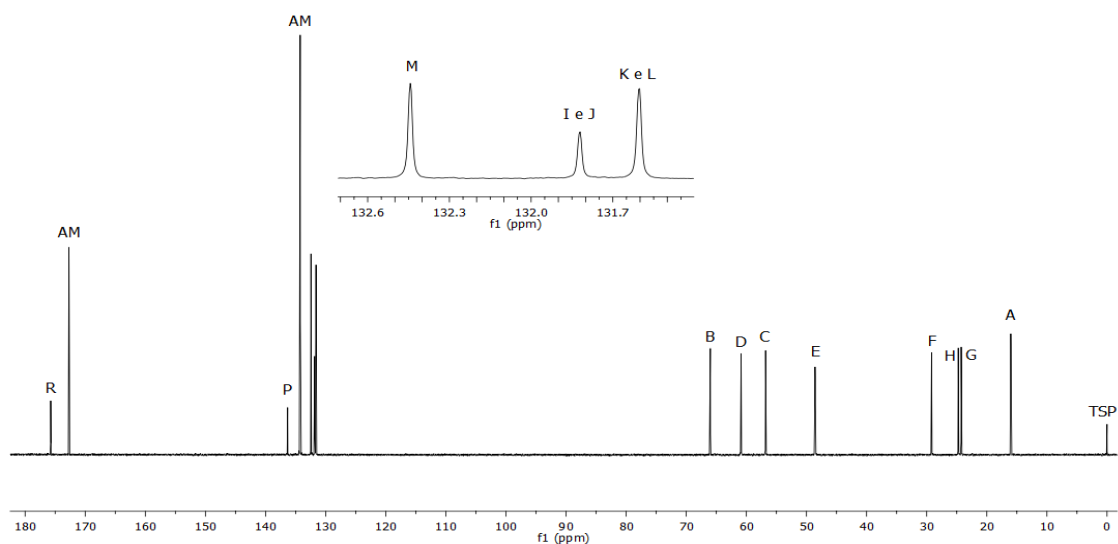
**Tabela 27** - Tabela de atribuição de sinais da substância DOC

DOC					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	DEPT-135	Atribuição
1,32	duplete	3H	20,3	$\text{CH}_3$	A
2,93	duplete	2H	37,3	$\text{CH}_2$	B
3,67	sexteto	1H	50,7	CH	C
3,83	simpleto	3H	59,2	$\text{CH}_3$	D
3,88	simpleto	3H	59,2	$\text{CH}_3$	E
7,00	simpleto	1H	119,2	CH	G
7,15	simpleto	1H	116,3	CH	F
			123,8	quaternário	H
			126,7	quaternário	J
			151,2	quaternário	K
			154,8	quaternário	I

## H.6 Etilfenidato



**Figura 71** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto Etilfenidato em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adiao de padrão interno (AM) adquirido  25°C. As letras indicam a atribuiao dos sinais.



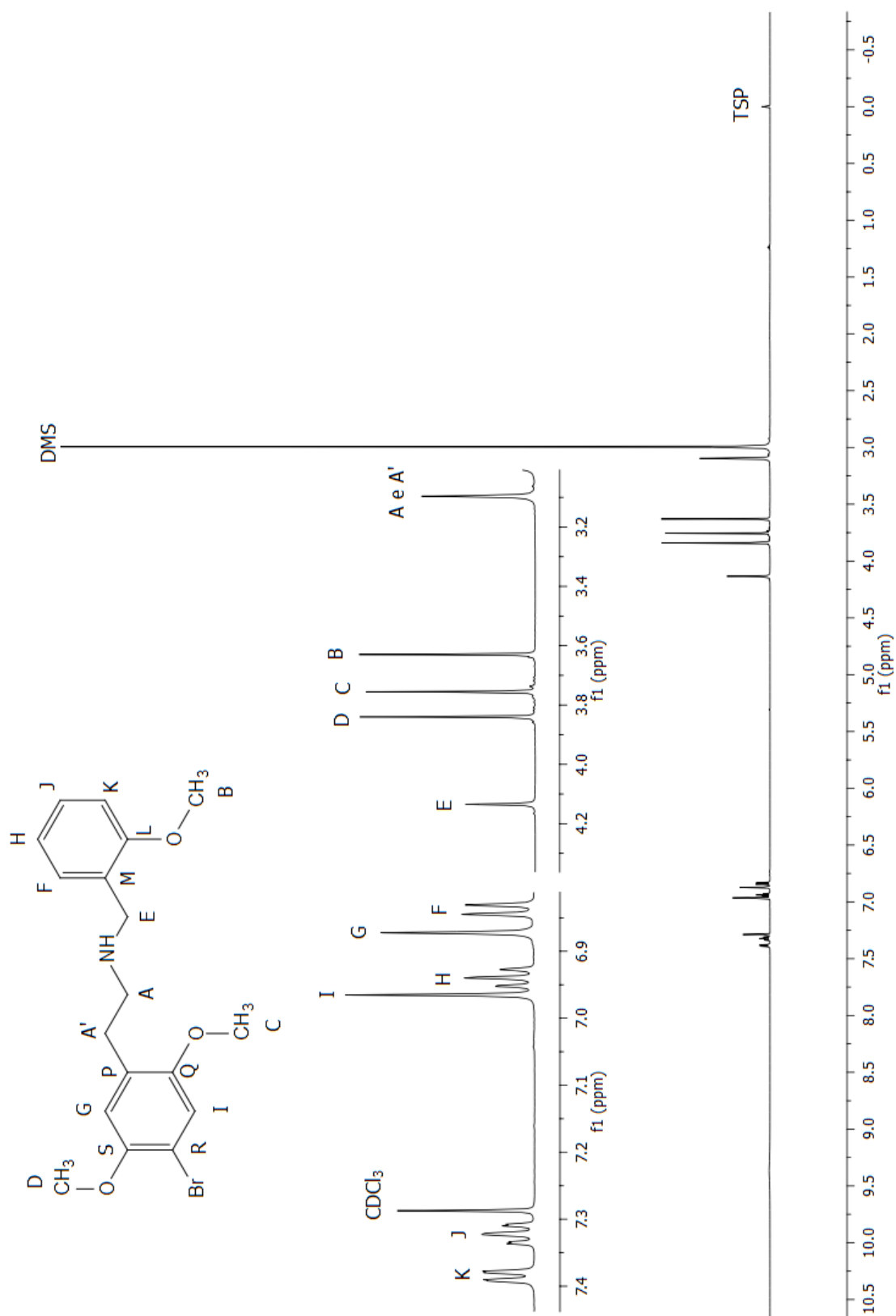
**Figura 72** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto Etilfenidato em  $\text{D}_2\text{O}$  e com adição de padrão interno (AM) adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

**Tabela 28** - Tabela de atribuição de sinais da substância Etilfenidato

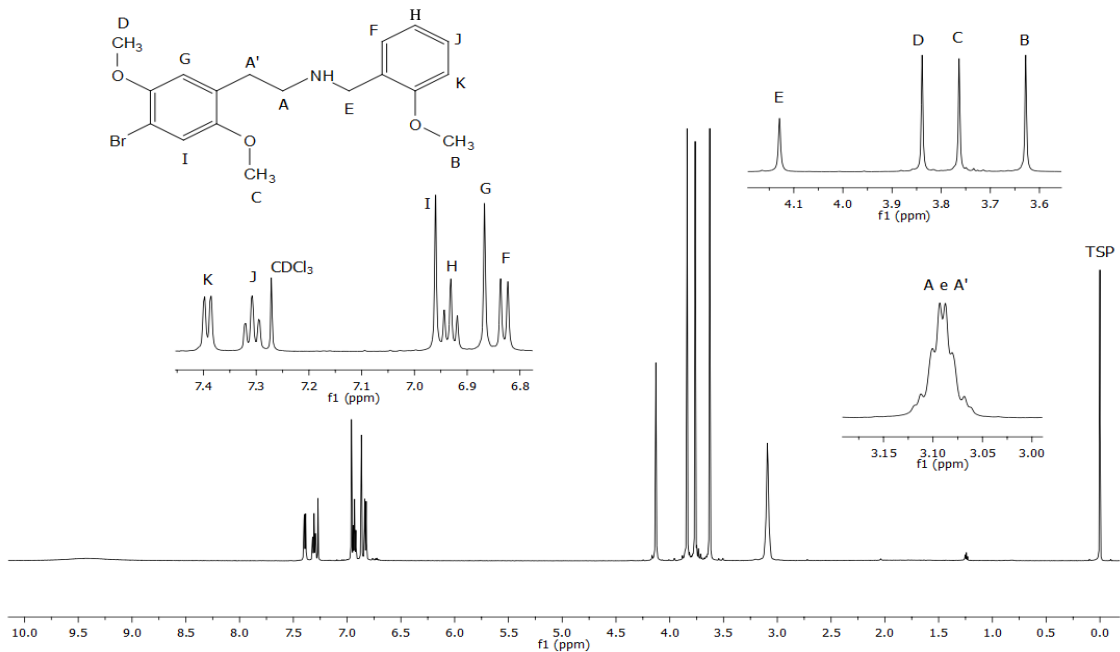
Etilfenidato					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	DEPT-135	Atribuição
1,17	triplete	3H	16,0	$\text{CH}_3$	A
1,41	multiplete	1H	29,2	$\text{CH}_2$	H
1,47	multiplete	1H	24,3	$\text{CH}_2$	E
1,63	multiplete	2H	24,8/29,2	$\text{CH}_2$	G e H
1,80	multiplete	1H	24,3	CH	E
1,88	multiplete	1H	24,8	$\text{CH}_2$	G
3,08	triplo duplete	1H	48,6	CH	F
3,47	duplo quinteto	1H	48,6	CH	F
3,82	multiplete	1H	60,7	CH	D
3,99	duplete	1H	56,6	CH	C
4,22	multiplete	2H	66,0	$\text{CH}_2$	B
7,33	multiplete	2H	131,6	CH	I e M
7,45	multiplete	1H	131,8	CH	K
7,45	multiplete	2H	132,4	CH	J e L
			136,3	quaternário	P
			175,7	quaternário	R



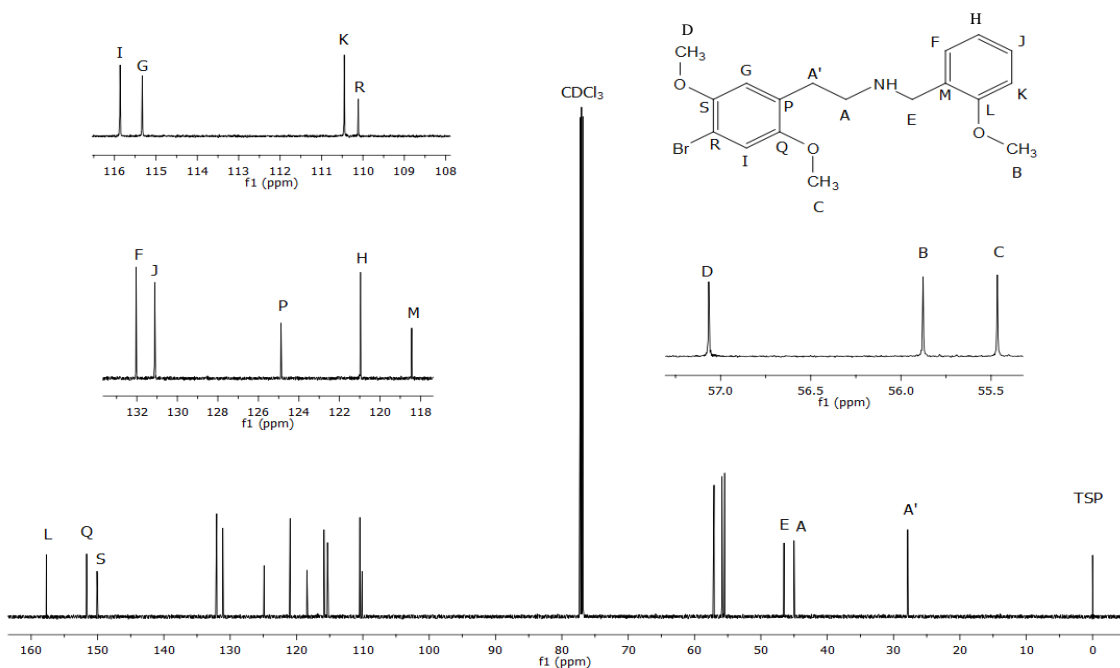
H.7 25B-NBOMe



**Figura 73** - Estrutura molecular e espectro de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 25N-NBOMe em CDCl<sub>3</sub> e com adição de padrão interno (DMS) adquirido à 25°C. As letras indicam a atribuição dos sinais.



**Figura 74** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto 25B-NBOMe em  $\text{CDCl}_3$  e sem adição de padrão interno adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

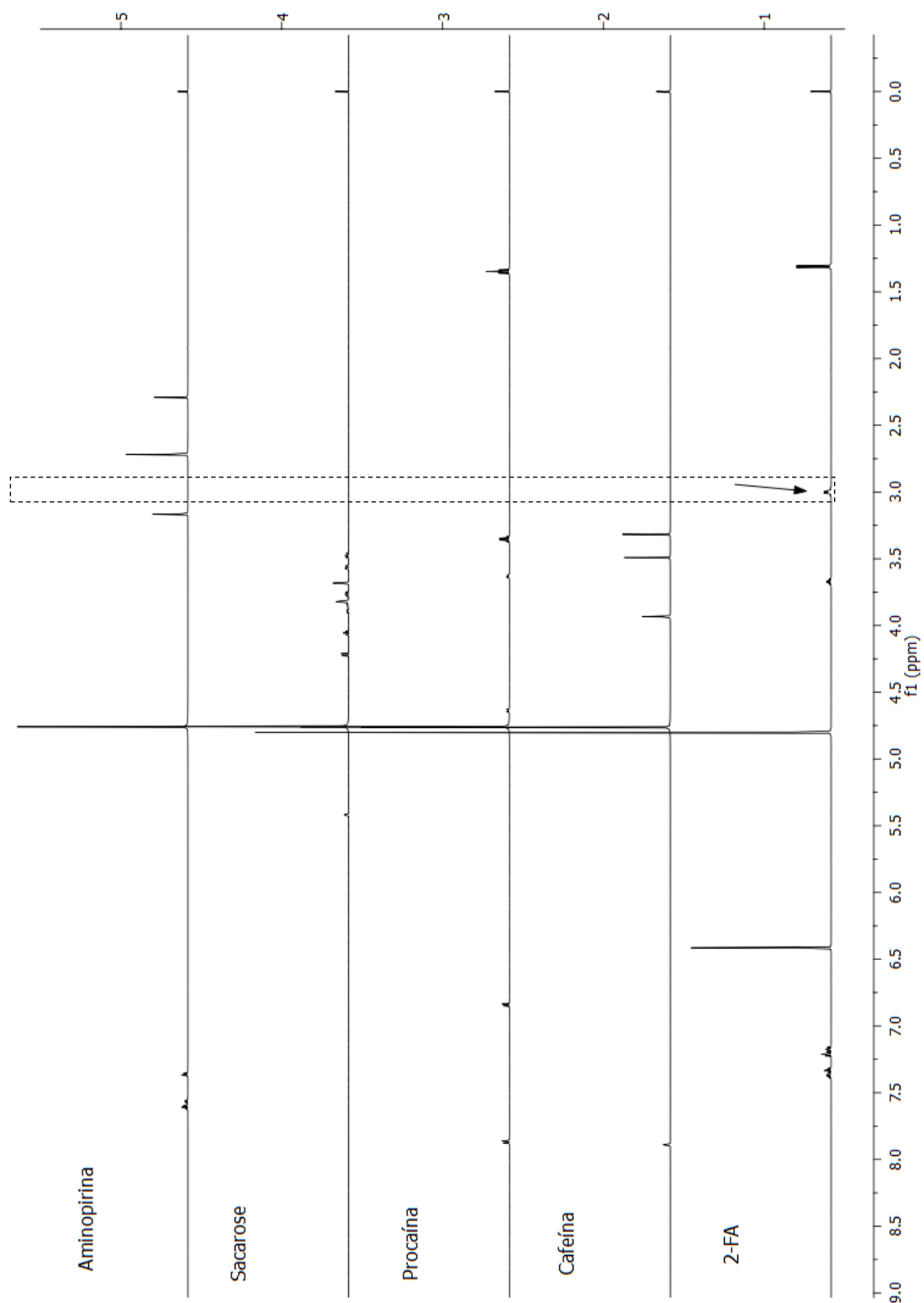


**Figura 75** - Estrutura molecular e espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (600 MHz) do composto 25B-NBOMe em  $\text{CDCl}_3$  e sem adição de padrão interno, adquirido à  $25^\circ\text{C}$ . As letras indicam a atribuição dos sinais.

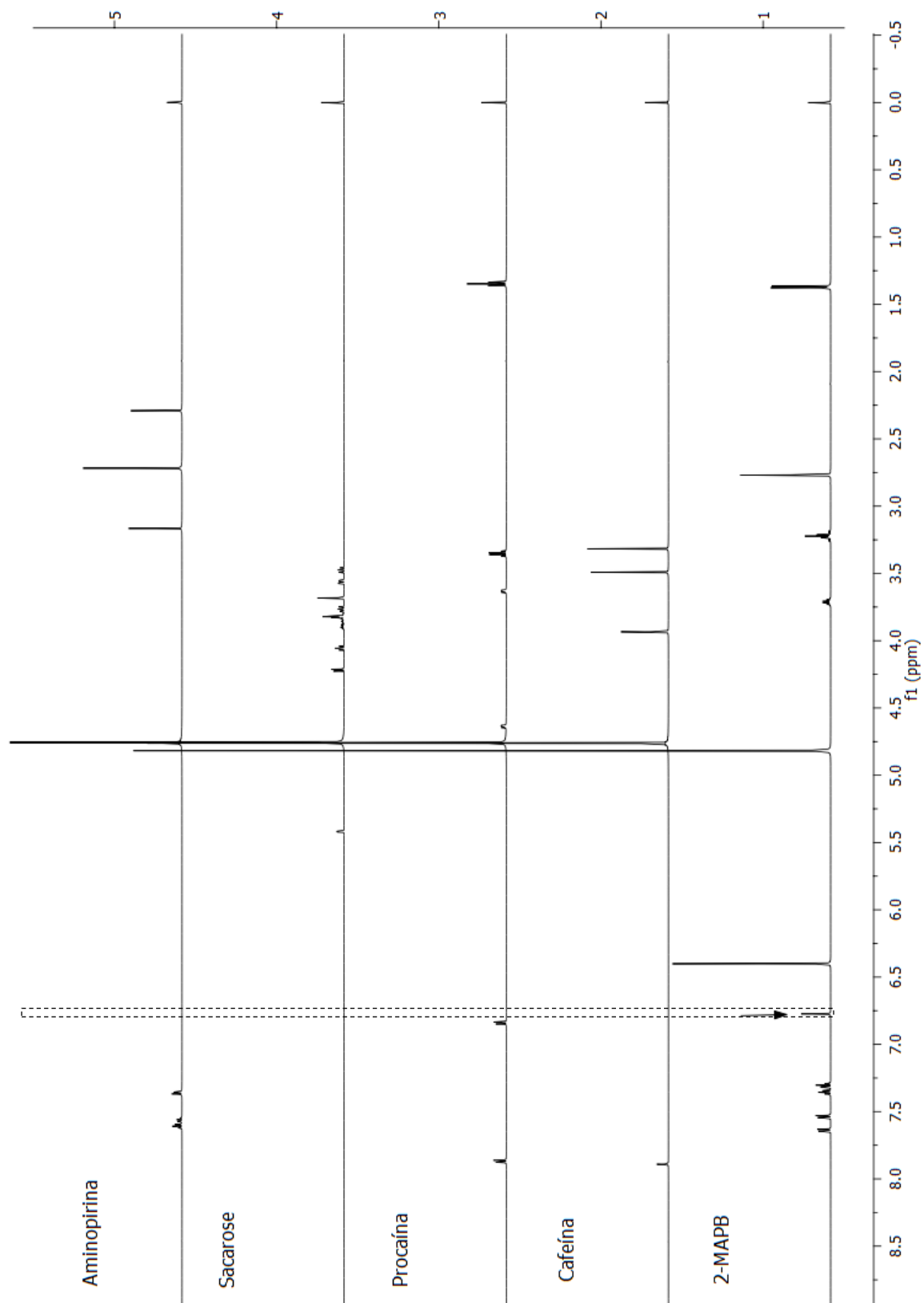
**Tabela 29** - Tabela de atribuição dos sinais da substância 25B-NBOMe

25B-NBOMe					
$\delta$ 1H (ppm)	Multiplicidade 1H	Integral 1H	$\delta$ 13C (ppm)	DEPT-135	Atribuição
3,09	múltiplo	4H	27,9	CH <sub>2</sub>	A'
3,09	múltiplo	4H	45,0	CH <sub>2</sub>	A
4,13	simpleto	2H	46,5	CH <sub>2</sub>	E
3,76	simpleto	3H	55,5	CH <sub>3</sub>	C
3,63	simpleto	3H	55,9	CH <sub>3</sub>	B
3,84	simpleto	3H	57,1	CH <sub>3</sub>	D
			110,1	Quaternário	R
6,84	duplo	1H	110,5	CH	K
6,87	simpleto	1H	115,3	CH	G
6,96	simpleto	1H	115,9		I
			118,4	Quaternário	M
6,93	tripleto	1H	121,0	CH	H
			124,9	Quaternário	P
7,31	tripleto	1H	131,1	CH	J
7,40	duplo	1H	132,1	CH	F
			150,1	Quaternário	S
			151,7	Quaternário	Q
			157,7	Quaternário	L

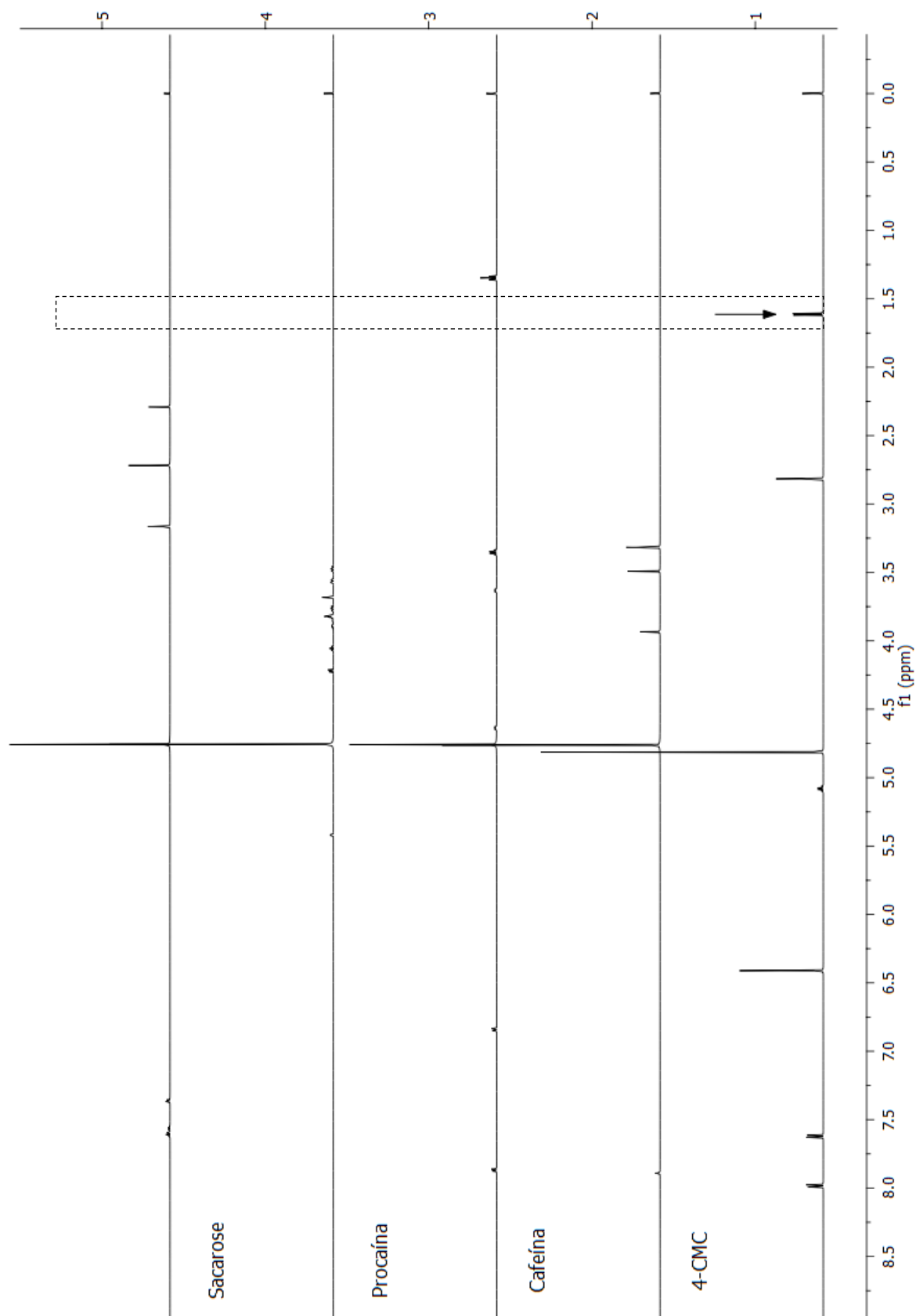
## ANEXO I



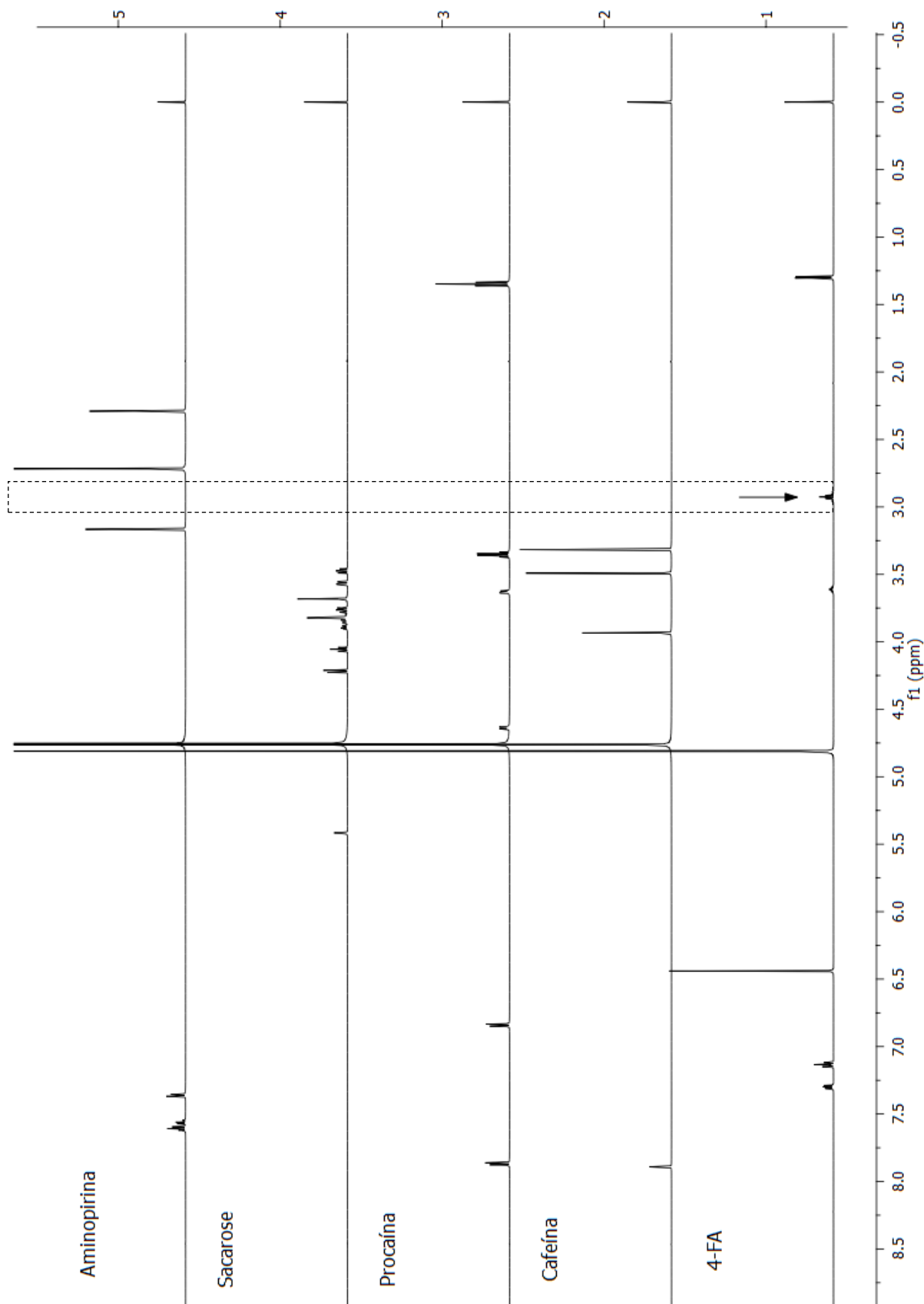
**Figura 76** Estudo de seletividade do método para a substância 2-FA. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 2FA e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto.



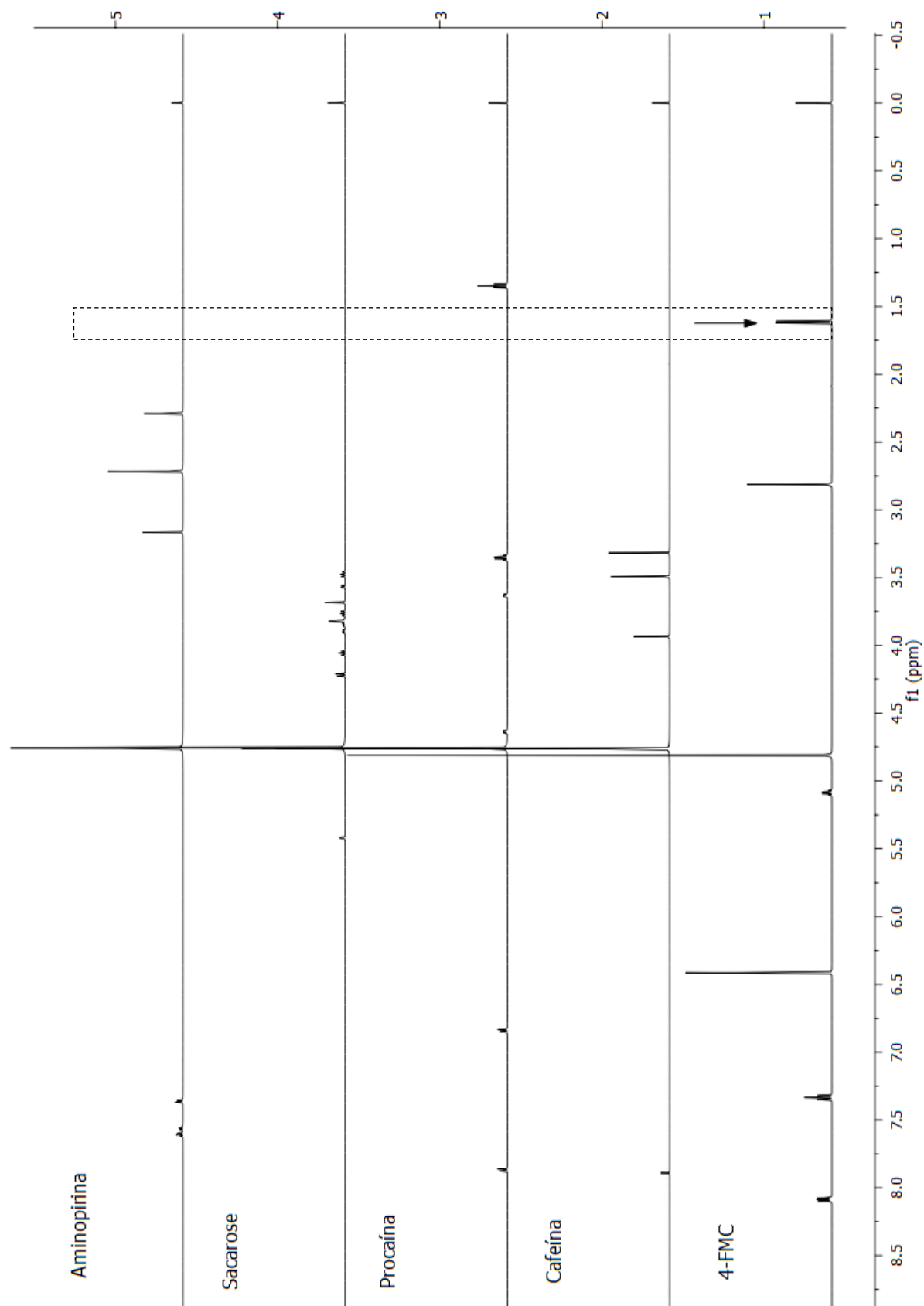
**Figura 77** Estudo de seletividade do método para a substância 2-MAPB. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 2-MAPB e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto



**Figura 78** Estudo de seletividade do método para a substância 4-CMC. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 4-CMC e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto

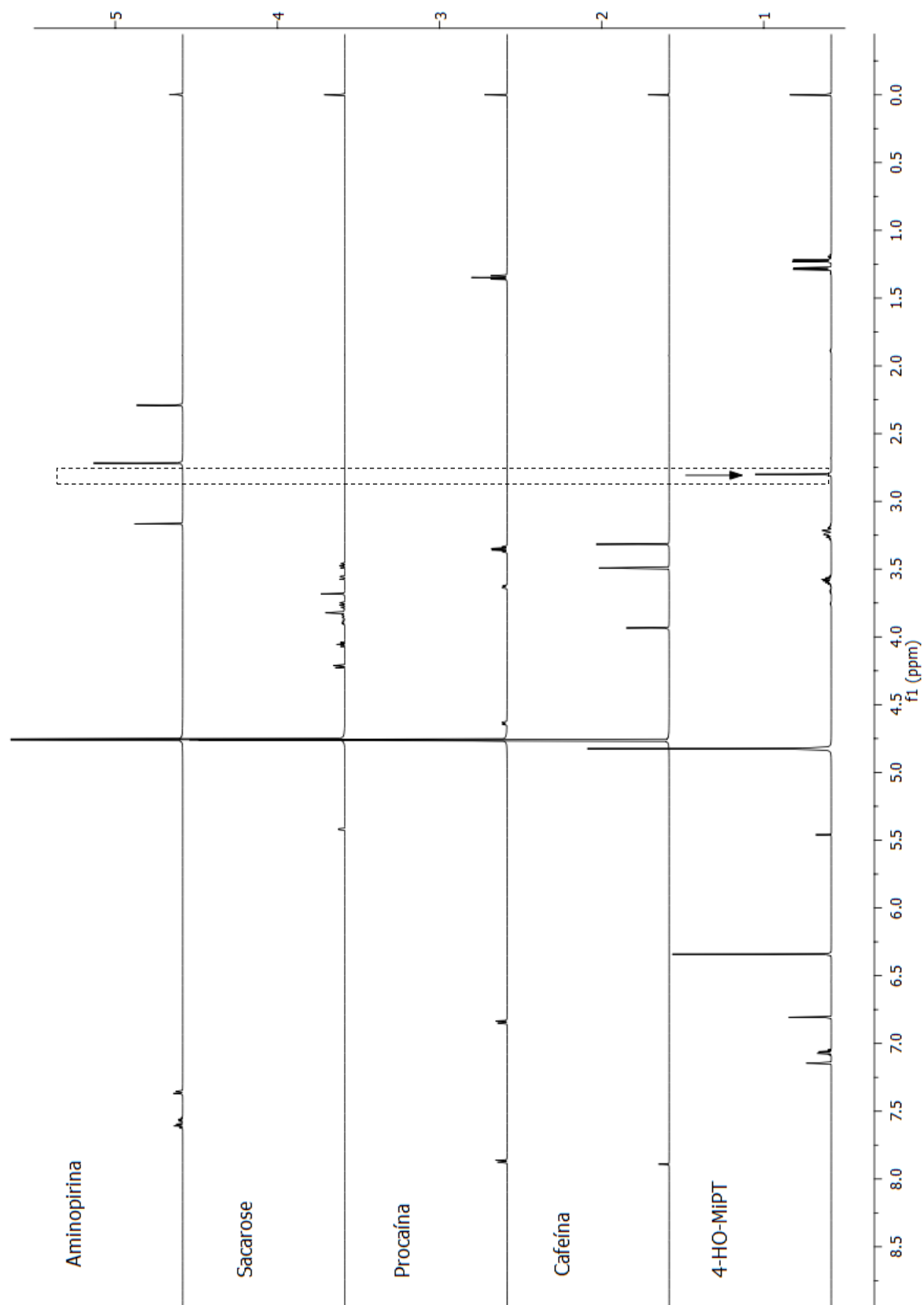


**Figura 79** Estudo de seletividade do método para a substância 4-FA. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 4-FA e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto

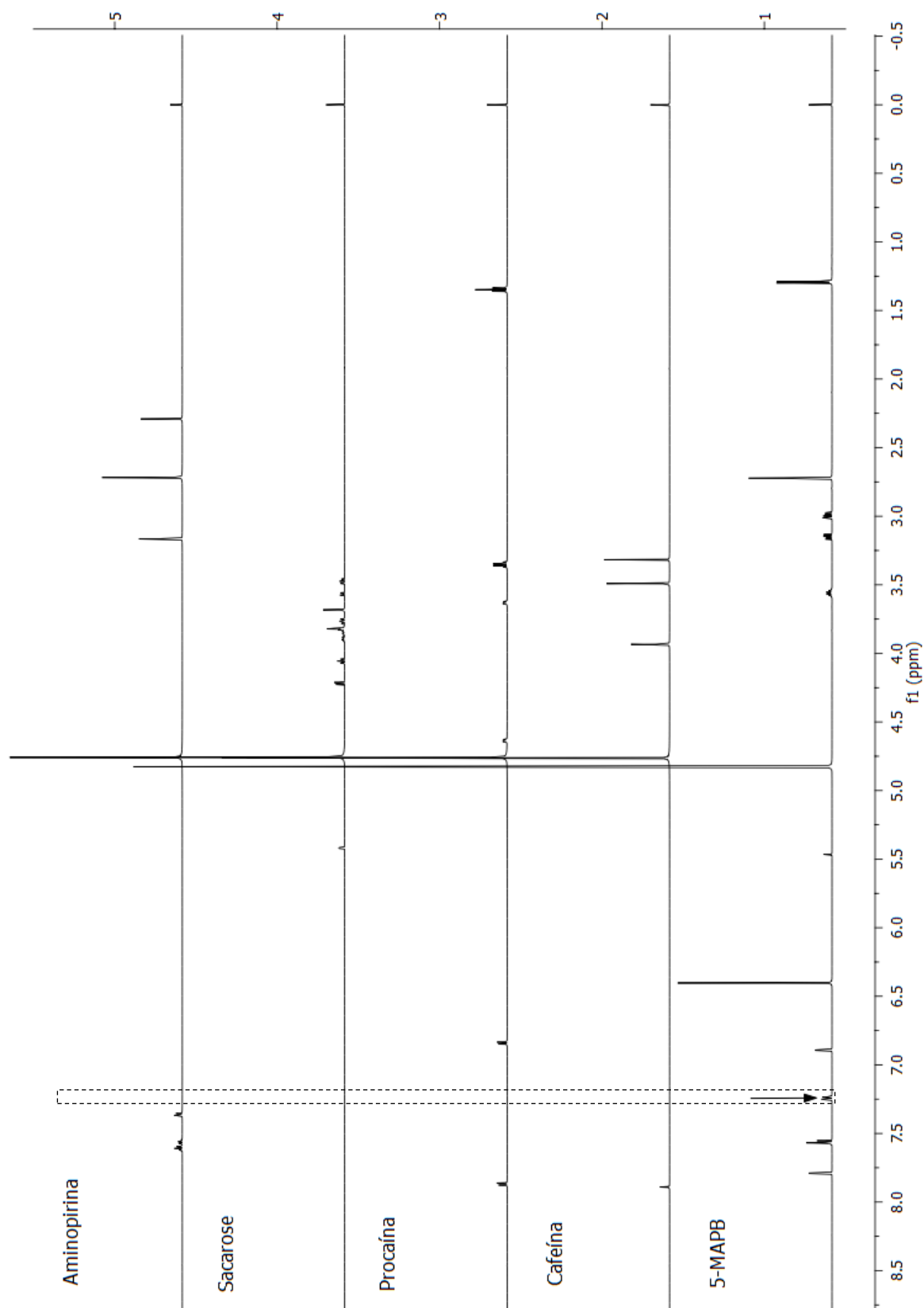


**Figure 49** Estudo de seletividade do método para a substância 4-FMC. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 4-FMC e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto

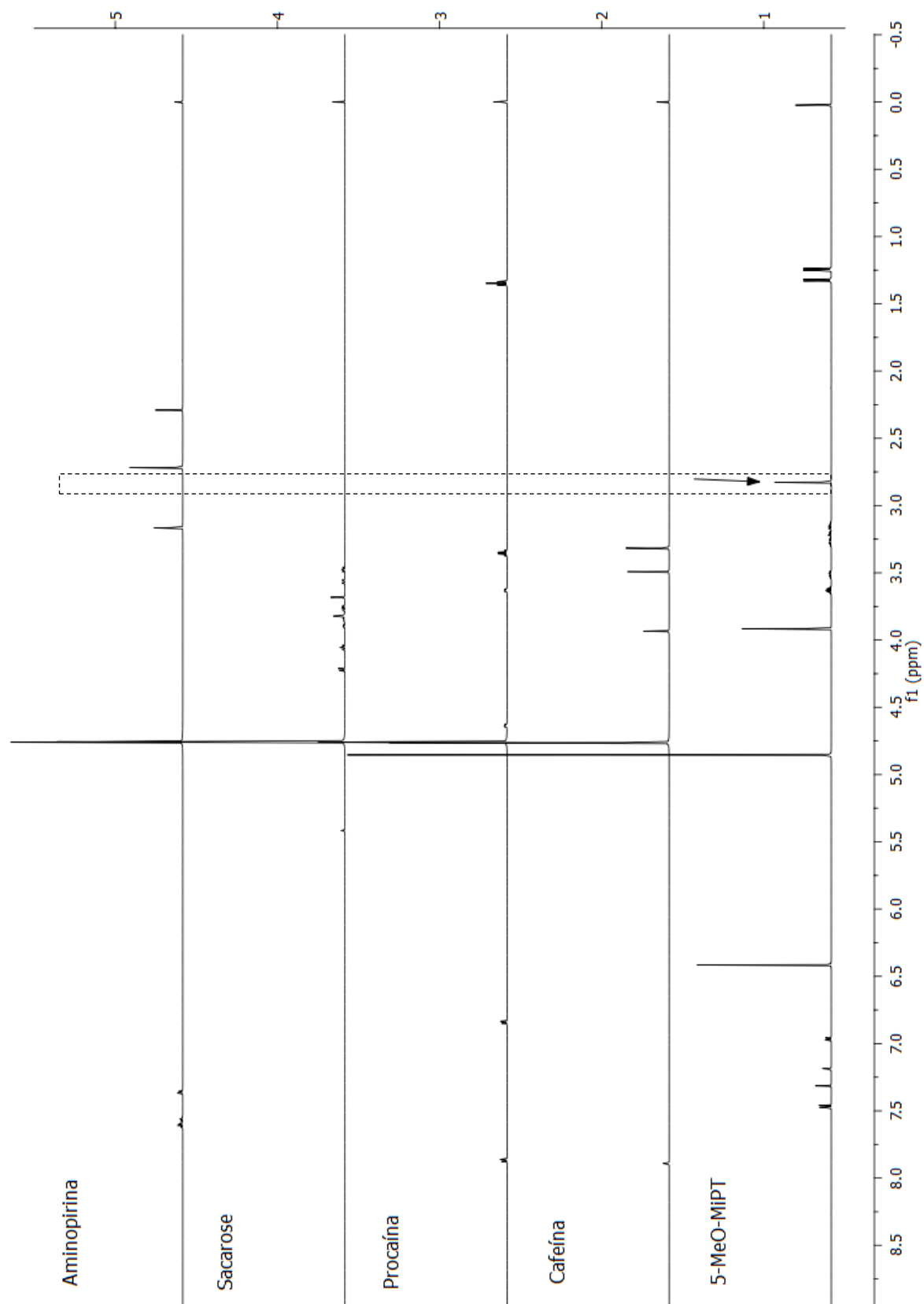




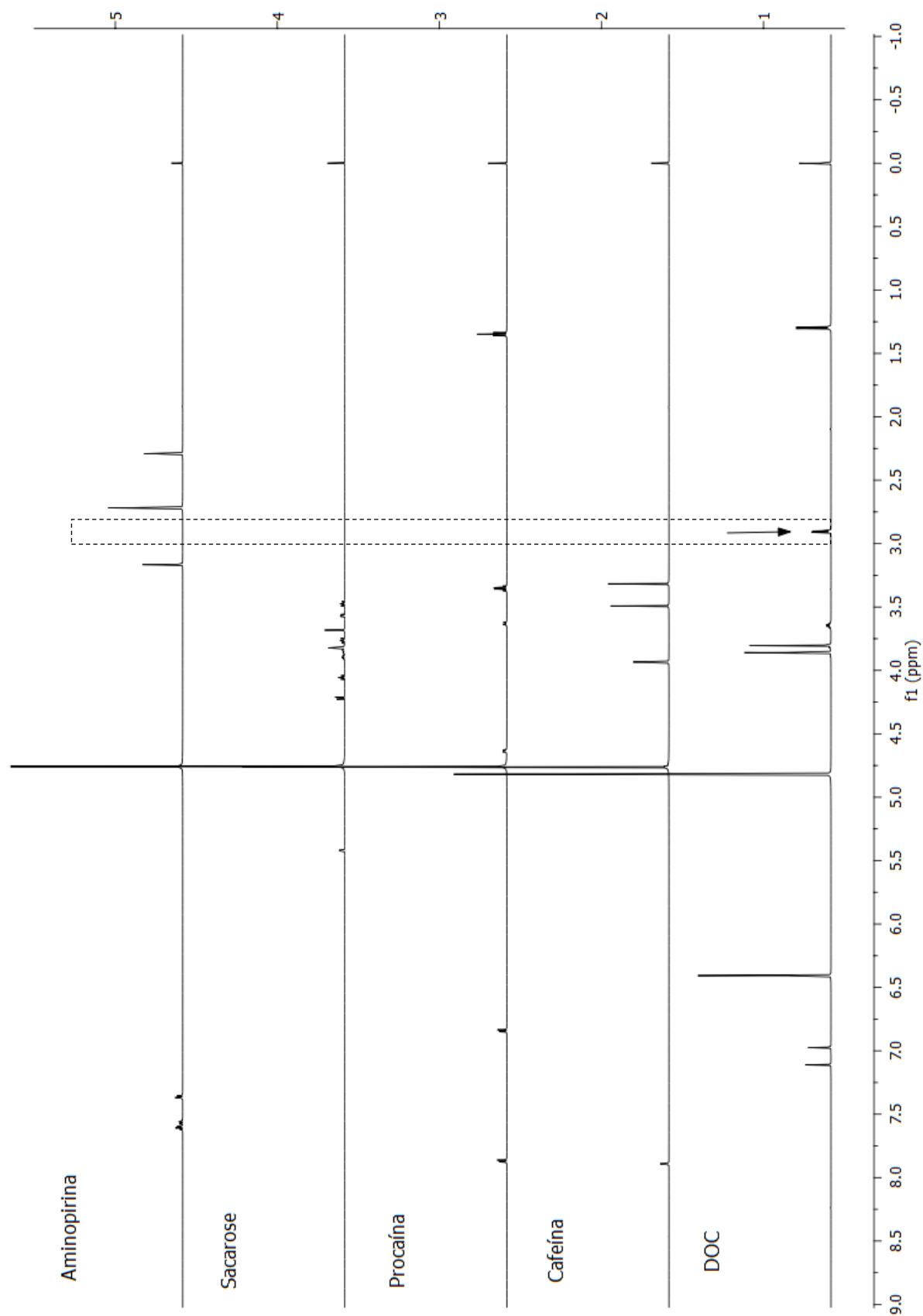
**Figura 80** Estudo de seletividade do método para a substância 4-HO-MiPT. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 4-HO-MiPT e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto



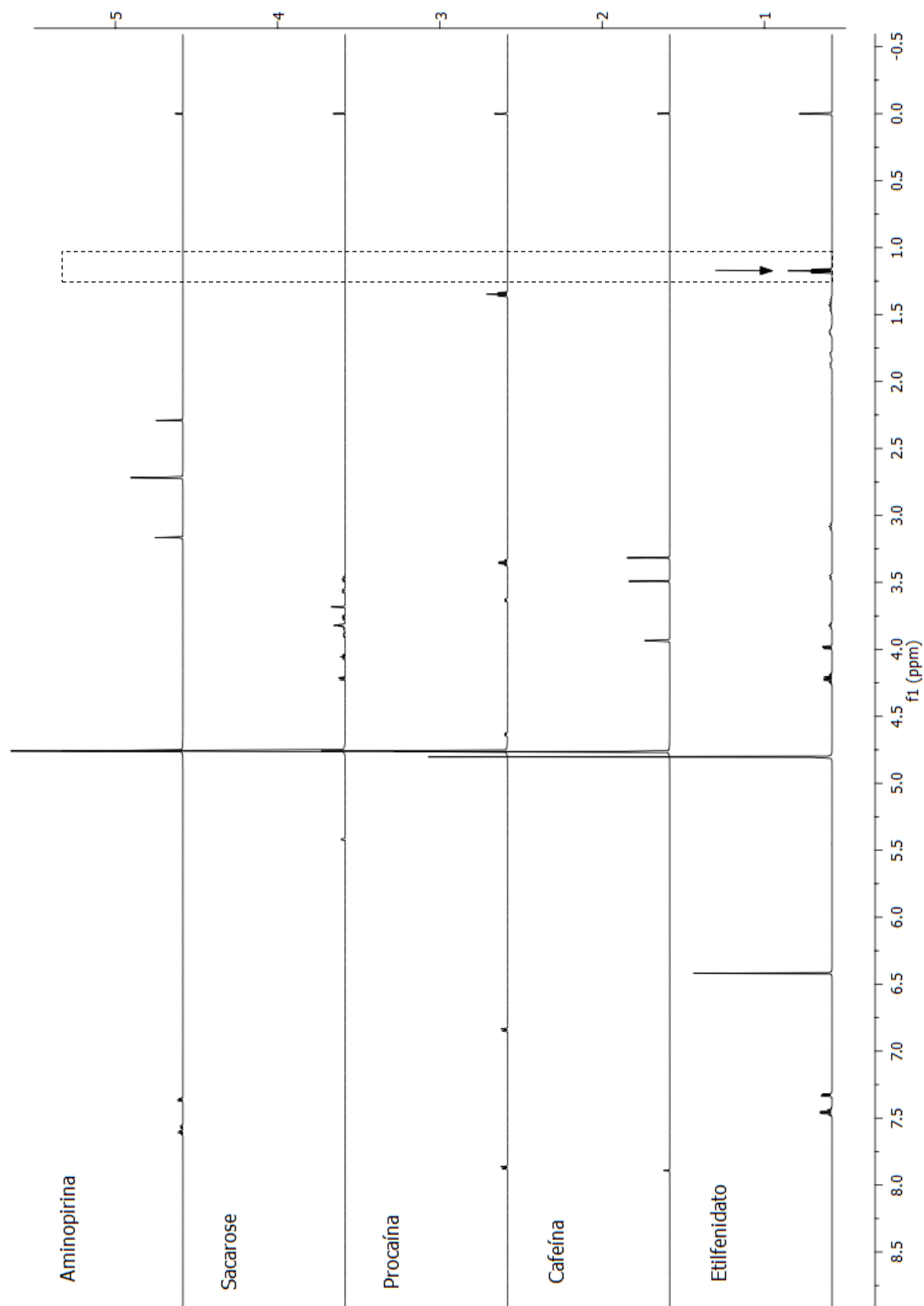
**Figura 81** Estudo de seletividade do método para a substância 5-MAPB. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 5-MAPB e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto



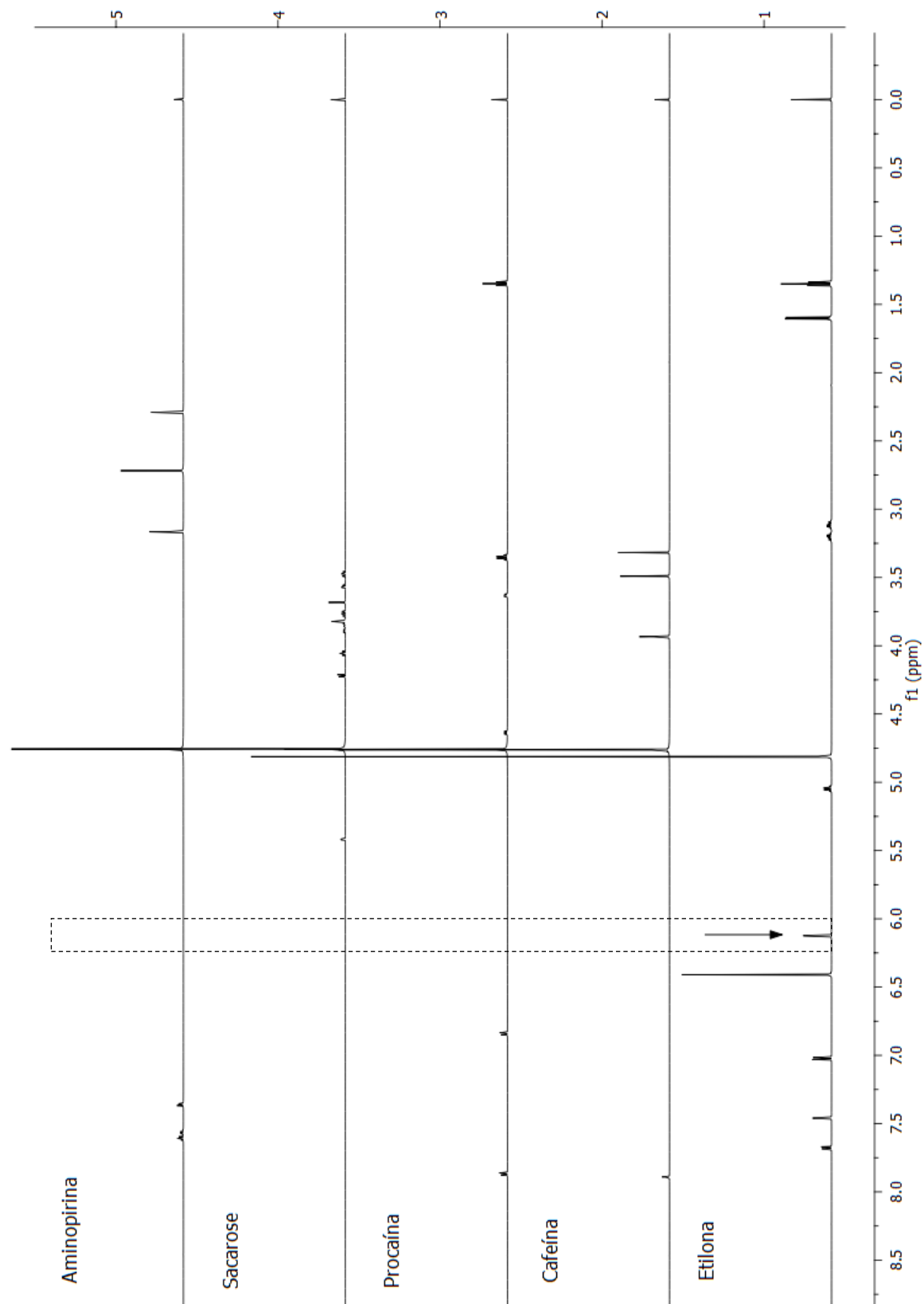
**Figura 82** Estudo de seletividade do método para a substância 5-MeO-MiPT. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto 5-MeO-MiPT e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto



**Figura 83** Estudo de seletividade do método para a substância DOC. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto DOC e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto



**Figura 84** Estudo de seletividade do método para a substância Etilfenidato. Espectros de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz) do composto Etilfenidato e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto



**Figura 85** Estudo de seletividade do método para a substância Etilona. Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) do composto Etilona e dos possíveis interferentes aminopirina, sacarose, procaína, cafeína em HOD à 25°C. A seta indica o sinal utilizado para a quantificação do composto