

2-(4-IODO-2,5-DIMETOXIFENIL)-N-[(2-METOXIFENIL)METIL]JETAMINA OU 25I-NBOME: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE UMA DESIGNER DRUG**Pâmella F. dos Santos^a, Lindamara M. Souza^b, Bianca B. Merlo^c, Helber B. Costa^b, Lilian V. Tose^b, Heloá Santos^b, Gabriela Vanini^b, Leandro F. Machado^d, Rafael S. Ortiz^e, Renata P. Limberger^f, Boniek G. Vaz^g e Wanderson Romão^{a,b,*}**^aInstituto Federal do Espírito Santo, 29106-010 Vila Velha – ES, Brasil^bDepartamento de Química, Universidade Federal do Espírito Santo, 29075-910 Vitória – ES, Brasil^cSuperintendência de Polícia Técnico-Científica do Estado do Espírito Santo, 29045-402 Vitória – ES, Brasil^dInstituto Nacional de Criminalística, Polícia Federal, 70610-200 Brasília – DF, Brasil^eSuperintendência de Polícia Federal no Estado do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 1365, 90160-093 Porto Alegre – RS, Brasil^fDepartamento de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 90040-060 Porto Alegre – RS, Brasil^gInstituto de Química, Universidade Federal de Goiás, 74001-970 Goiânia – GO, Brasil

Recebido em 28/04/2015; aceito em 16/09/2015; publicado na web em 26/11/2015

2-(4-IODINE-2,5-DIMETHOXYPHENYL)-N-[(2-METHOXYPHENYL)METHYL]JETAMINE OR 25I-NBOME: CHEMICAL CHARACTERIZATION OF A DESIGNER DRUG. Drug trafficking and the introduction of new drugs onto the illicit market are one of the main challenges of the forensic community. In this study, the chemical profile of a new designer drug, 2-(4-iodine-2,5-dimethoxyphenyl)-*n*-[(2-methoxyphenyl)methyl]jetamine or 25I-NBOME was explored using thin layer chromatography (TLC), ultraviolet-visible spectrophotometry (UV-Vis), attenuated total reflection with Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR), gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) and electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (ESI-FT-ICR MS). First, the TLC technique was effective for identifying spots related to 25C-, 25B- and 25I-NBOME compounds, all with the same retention factor, $R_f \approx 0.50$. No spot was detected for 2,5-dimethoxy-4-bromoamphetamine, 2,5-Dimethoxy-4-chloroamphetamine or lysergic acid diethylamide compounds. ATR-FTIR preserved the physical-chemical properties of the material, whereas GC-MS and ESI-MS showed better analytical selectivity. ESI(+)-FT-ICR MS was used to identify the exact mass (m/z 428.1706 for the $[M + H]^+$ ion), molecular formula ($M = C_{18}H_{22}INO_3$), degree of unsaturation (DBE = 8) and the chemical structure (from collision induced dissociation, CID, experiments) of the 25I-NBOME compound. Furthermore, the ATR-FTIR and CID results suggested the presence of isomers, where a second structure is proposed as an isomer of the 25I-NBOME molecule.

Keywords: designer drugs; 25I-NBOME; CCD; ATR-FTIR; GC-MS; ESI(+)-FT-ICR MS.

INTRODUÇÃO

As chamadas *designer drugs*, *club drugs* ou *new psychoactive substances* (NPS) estão entre as drogas de abuso mais utilizadas no Ocidente. Elas são utilizadas principalmente por adolescentes e jovens no contexto de saídas à noite em boates, “raves” e bares.^{1,2} O termo *designer drugs* é tradicionalmente utilizado para identificar substâncias sintéticas, mas, recentemente, foi ampliado para incluir outras substâncias psicoativas que imitam os efeitos de drogas ilícitas e são produzidas por meio da introdução de pequenas modificações na estrutura química de substâncias controladas para burlar a legislação vigente. Além disto, a disponibilidade e a diminuição do custo tecnológico permitem essas drogas sejam sintetizadas com facilidade em laboratórios clandestinos.³

Nos anos 90, com a popularização da internet, houve uma enorme divulgação e distribuição das *designer drugs*. Entretanto, foi na primeira década do século XXI que o número de novos usuários de substâncias ilícitas aumentou de forma significativa, com relatos da apreensão de diversas *designer drugs* em todo o mundo.^{1,3,4} O observatório Europeu de Droga e da Toxicodependência identificou os seguintes grupos de *designer drugs*:

- Feniletilaminas,⁵ que englobam uma ampla faixa de substâncias que podem ter efeitos estimulantes, alucinógenos.

- Triptaminas, que incluem substâncias que apresentam efeitos alucinógenos.
- Piperazinas,⁶ que são representadas pelo *m*-clorofenilpiperazina (*m*CPP)⁷ e benzil piperazina (BZP), ambas com efeitos estimulantes no sistema nervoso central.
- Catinonas sintéticas,^{8,9} as quais exibem efeitos estimulantes, como a metilona, mefedrona, etc.
- Canabinóides sintéticos, funcionalmente similares ao tetraidrocanabinol (THC), o princípio ativo da maconha.
- Outras substâncias, que incluem substâncias derivadas de plantas e substâncias sintéticas psicoativas (por exemplo, derivados de cocaína sintética e quetamina) ou produtos medicinais e derivados.³

Do ponto de vista analítico, pode-se considerar um grande desafio a correta identificação desta classe de drogas. A dificuldade em se analisar as *designer drugs* por métodos estabelecidos se dá devido à diversidade das modificações ocorridas nas moléculas e à velocidade com que elas surgem no mercado, sendo mais rápido o desenvolvimento de novas moléculas do que de protocolos analíticos para identificação inequívoca desses compostos baseado, por exemplo, usando métodos colorimétricos ou de cromatografia planar. Portanto, para acompanhar a evolução do mercado de drogas ilícitas é necessário adaptar continuamente os métodos e metodologias de análises existentes ou utilizar métodos analíticos modernos que permitam a determinação correta destes compostos. Neste contexto, a produção ou a aquisição de padrões de referência é essencial.¹

*e-mail: wandersonromao@gmail.com

Dados da coordenação geral do Departamento da Polícia Civil sobre apreensões de drogas sintéticas como *ecstasy* e selos de dietilamida do ácido lisérgico (LSD) no estado do Espírito Santo mostram um aumento de 300 a 400% nos anos de 2012 e 2014 quando comparamos com o período de 2008 a 2011. Esse resultado é devido às apreensões de novas drogas sintéticas, principalmente no mercado de *ecstasy* e LSD, como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Princípios ativos apreendidos no mercado de comprimidos e selos no estado do ES nos anos de 2008 a 2014

Ano	Comprimidos	selos	Apreensões de comprimidos e selos
2008	MDMA ¹	LSD ²	6
2009	MDMA ¹ e piperazina	LSD ²	8
2010	MDMA ¹ e piperazina	LSD ²	5
2011	MDMA ¹	LSD ²	5
2012	MDMA ¹ e Clobenzorex,	LSD ²	32
2013	MDMA ¹ , Clobenzorex, mefedrona, MDMC ³ e metanfetamina	LSD ²	39
2014	JWH-18 ⁵ , etilona, catinonas e cetamina	25I-NBOMe ⁶ e DOC ⁴	42

¹MDMA: 3,4-metilenodioximetanfetamina; ²LSD: Dietilamida do ácido lisérgico; ³MDMC: Metilona; ⁴DOC: 2,5-dimetoxi-4-cloroanfetamina; ⁵JWH-18: 1-pentil-3-(1-naftoil)indol; e ⁶25I-NBOMe: 2-(4-iodo-2,5-dimetoxifenil)-*n*-(2-metoxifenil)metil]etamina. Fonte: Polícia Civil do Espírito Santo.

Entre os princípios ativos apreendidos no estado do Espírito Santo como mostrado na Tabela 1, é destacado neste trabalho o 25I-NBOMe ou 2-(4-iodo-2,5-dimetoxifenil)-*n*-(2-metoxifenil)metil]etamina, Figura 1f. O 25I-NBOMe é uma droga psicodélica descoberta em 2003 pelo químico Ralf Heim da Universidade de Berlim, que foi classificada como droga ilícita pela União Europeia em 25 de setembro de 2014, por não possuir propósito médico ou legítimo. No

Brasil, ela foi proscrita pela Anvisa (Lista F2) na portaria 344/98 em 18 de fevereiro de 2014. Além do 25I-NBOMe, as substâncias 25C-NBOMe e 25B-NBOMe também foram proscritas no mesmo período e vem sendo apreendidas em outros estados brasileiros (veja suas estruturas químicas na Figura 1d-e). Todas essas substâncias têm como principal objetivo imitar os efeitos psíquicos de drogas ilícitas, por exemplo, o LSD¹⁰ (Figura 1a) e o MDMA.^{6,10,11} Devido às estruturas químicas semelhantes existentes entre as moléculas de 25C-NBOMe, 25B-NBOMe e 25I-NBOMe (Figuras 1d-f),¹² a caracterização inequívoca delas por técnicas forenses convencionais (testes colorimétricos, cromatografia de camada fina (CCD) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)) torna-se um desafio. Destacam-se, ainda, nesse mercado ilícito, os compostos DOB (2,5-dimetoxi-4-bromoanfetamina) e DOC (2,5-dimetoxi-4-cloroanfetamina), Figuras 1b-c.¹²

Este artigo tem como objetivo identificar o perfil químico de alguns selos apreendidos, principalmente pela Polícia Civil do Estado do Espírito Santo (PC-ES), contendo, em sua maioria, o princípio ativo 25I-NBOMe. O desempenho de diferentes métodos analíticos (CCD, infravermelho com transformada de Fourier e acessório de reflexão total atenuada (ATR-FTIR), UV-Vis, CG-EM e *electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry* (ESI(+)/FT-ICR MS) foram comparados.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Amostras e reagentes

Quatorze amostras de selos (nomeadas de S1 a S14) foram fornecidas pelo Laboratório de Química Legal da Superintendência da PC-ES e sete soluções de extratos metanólicos de selos (S15-S21) foram fornecidas pelo Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal de Brasília. A Tabela 2 mostra a relação dos selos apreendidos e os princípios ativos previamente identificados, além das técnicas empregadas para cada amostra. A Figura 1S (material suplementar) mostra a foto de alguns selos apreendidos no ano de 2014 pelo Laboratório de Química Legal da PC-ES. Solventes como

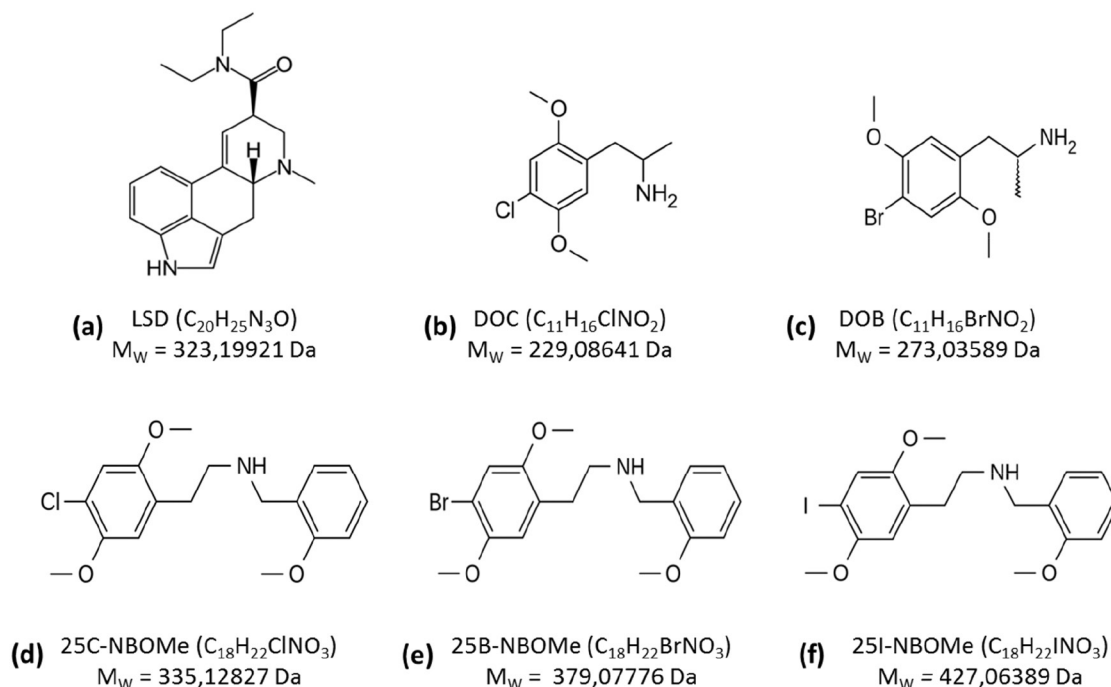


Figura 1. Princípios ativos identificados em selos apreendidos pela PC-ES e do INC do DF⁹

acetonitrila, hexano, dietilamina e tolueno (todos grau UV/HPLC, 99,5%, Vetec® Química Fina Ltda, Rio de Janeiro) foram usados para as análises de espectroscopia na região do UV-Vis e CCD. O solvente metanol e os reagentes trifluoroacetato de sódio (NaTFA) e L-arginina (Sigma-Aldrich Chemicals, EUA) foram usados para a dissolução de amostra, calibração e análise por ESI(+)-FT-ICR MS.

Tabela 2. Selos apreendidos no Estado do Espírito Santo e no Distrito Federal no ano de 2014

Amostra	Departamento	Identificação	Técnicas utilizadas
S1*	PC-ES	25I-NBOMe	CCD, FTIR e ESI(+)-MS
S2*	PC-ES	25I-NBOMe	CCD, FTIR e ESI(+)-MS
S3*	PC-ES	25I-NBOMe e 25H-NBOMe	CCD, FTIR e ESI(+)-MS
S4†	PC-ES	25I-NBOMe	CCD, FTIR e ESI(+)-MS
S5*	PC-ES	-	CCD, FTIR e ESI(+)-MS
S6*	PC-ES	25I-NBOMe e 25H-NBOMe	CCD, UV-Vis, FTIR e ESI(+)-MS
S7*†	PC-ES	25I-NBOMe e 25H-NBOMe	CCD, FTIR e ESI(+)-MS
S8*	PC-ES	25I-NBOMe	CCD, FTIR e ESI(+)-MS
S9	PC-ES	25I-NBOMe	CCD
S10	PC-ES	LSD	CCD
S11	PC-ES	LSD	CCD, UV-Vis e ESI(+)-MS
S12	PC-ES	DOC	CCD
S13*†	PC-ES	25I-NBOMe e 25H-NBOMe	CG-EM, FTIR e ESI(+)-MS
S14*	PC-ES	25I-NBOMe	CG-EM e ESI(+)-MS
S15	INC/PF	LSD	CCD
S16	INC/PF	DOC	CCD
S17	INC/PF	25C-NBOMe	CCD, UV-Vis
S18	INC/PF	25I-NBOMe	CCD
S19	INC/PF	25B-NBOMe	CCD, UV-Vis
S20	INC/PF	DOB	CCD
S21	INC/PF	LSD	CCD

* Identificado à presença do composto de fórmula molecular $M = C_{22}H_{43}NO$, m/z 338 e DBE = 2; † Identificado à presença do metilendioximetoxietilfetamina.

Caracterização Química

Cromatografia de Camada Delgada (CCD)

Dezenove soluções (amostras S1-S12 e S15-S21) foram preparadas para as análises de CCD. As amostras de selos foram cortadas em dimensões de 1 x 0,5 cm², contendo uma massa média de ≈ 10 mg e solubilizados em 1 mL de metanol e aplicados com auxílio de um capilar na fase estacionária de sílica gel. O sistema eluente foi uma mistura ternária contendo os solventes hexano/dietilamina/tolueno na proporção de 75/15/10 v/v%. As placas de CCD foram eluídas em uma cuba e reveladas usando câmara escura contendo duas lâmpadas na região do UV (254 e 365 nm). Os fatores de retenção (Rf) foram calculados a partir da razão da distância percorrida pela amostra aplicada e da distância percorrida pelo solvente.

Espectroscopia na região do UV-Vis

Para as análises de espectroscopia na região de UV-VIS foram

utilizadas quatro soluções contendo 25I-NBOMe (S6), 25B-NBOMe (S19), 25CI-NBOMe (S17) e LSD (S11). A partir da solução preparada (1 selo em 1 mL de metanol), 100 µL do sobrenadante foram diluídos em 3 mL de acetonitrila. As análises de UV-Vis foram realizadas utilizando um espectrofotômetro Perkin Elmer®, modelo Lambda 45, USA, no modo de feixe duplo, na região de 200 e 700 nm, com um total de 64 varreduras e uma resolução de 4 cm⁻¹. Foi utilizada uma cubeta de quartzo de 10 mm.

ATR-FTIR

Noves selos (S1-S8 e S13) foram analisados diretamente pela técnica de ATR-FTIR. As análises de ATR-FTIR foram realizadas por um FTIR Perkin Elmer® modelo *Spectrum 400* MID/NIR FTIR com acessório ATR (cristal de Seleneto de Zinco) para aquisição dos dados. Os espectros de ATR-FTIR foram adquiridos no modo *single*, com resolução de 4 cm⁻¹, na região de 4000 a 500 cm⁻¹ e registrados com uma média de 16 varreduras.

CG-EM

As amostras S13 e S14 foram dissolvidas em 1 mL de metanol e injetadas para análise de CG-EM. Antes da injeção, as soluções foram centrifugadas proporcionando a precipitação de particulados maiores. Apenas o sobrenadante foi usado nas injeções. O sistema de CG-EM é constituído por uma fonte de ionização por elétrons (EI) e um analisador de massas do tipo quadrupolo (marca Perkin Elmer® modelo Clarus 600 T) com amostrador automático Gerstel (modelo MPS 2 Twister). A coluna cromatográfica usada foi de 30 m de comprimento, com diâmetro interno de 0,25 mm e revestida com um filme de espessura de 0,25 µm composta por 5% fenil – 95% dimetilpolisiloxano (marca Elite 5). O gás de arraste foi He com fluxo de 1,0 mL min⁻¹. A temperatura do injetor foi de 220 °C e temperatura do detector de 250 °C. A programação do forno tem início em 150 °C com incremento de 20 °C min⁻¹ até a temperatura final de 280 °C. A pressão foi mantida constante em 8,3 psi. Foi utilizado o modo split na razão de 1:20. Na fonte de EI foi usada uma voltagem de 70 eV. Os espectros de CG-EM foram adquiridos no modo *full scan* com faixa de massa de m/z 40 a 500.¹³

ESI(+)-FT-ICR MS e ESI(+)-MS/MS

Entre as quatorze amostras de selos fornecidas pela PC-ES, dez amostras (S1-S8, S13 e S14) foram solubilizadas em 1 mL de metanol. Aproximadamente 10 µL do extrato produzido foi diluído novamente em 1 mL de metanol acidificado com 0,1% em volume de ácido fórmico. A solução resultante foi analisada por ESI(+)-FT-ICR MS.

As soluções foram analisadas por infusão direta a uma taxa de fluxo de 5 µL min⁻¹ para a fonte de *electrospray* no modo positivo de aquisição de íons (ESI(+)) e adquiridos em uma região de m/z 150 a 1300. As condições da fonte de ESI(+) foram: pressão de gás nebulizador de 1,0 bar, voltagem capilar de 3,2 kV e temperatura do capilar de 250 °C. O tempo de acumulação de íons foi de 5.10⁻⁴ s, sendo que cada espectro foi adquirido pela acumulação de 32 *scans* com um domínio de tempo de 4 *mega-point*.¹⁴

Todos os espectros de FT-ICR MS foram externamente calibrados utilizando uma solução de NaTFA (m/z de 200 a 1200). Um poder de resolução de aproximadamente 500 000 a m/z de 428 e uma exatidão de massa menor do que 1 ppm fornecem fórmulas moleculares inequívocas para íons moleculares monocarregados. Os espectros de FT-ICR MS foram adquiridos e processados utilizando o *software Data Analysis* (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). O grau de instauração para cada molécula é determinado a partir do seu valor de DBE (*double bond equivalent*), equação 1:^{15,16}

$$DBE = c - h/2 + n/2 + 1 \quad (1)$$

onde c, h, e n correspondem aos números de carbono, hidrogênio e nitrogênio, respectivamente, na fórmula mínima determinada a partir dos dados de FT-ICR MS.

Experimentos no modo *tandem* (ESI(+)/MS/MS) foram realizados para o íon de m/z 428 utilizando o espectrômetro de massas Thermo LTQ (Thermo Fisher Scientific, USA). Os seguintes parâmetros foram utilizados: voltagem do ESI(+) = 3 kV, temperatura do capilar = 275 °C, voltagem do *tube lens* = 100 V e energia de colisão de 15–30%.¹²

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CCD e espectroscopia na região do UV-Vis

A Figura 2 mostra o sistema de CCD usando como eluente a mistura de hexano/dietilamina/tolueno (75/15/10 v/v %) para as 19 amostras de selos (S1-S12, e S15-S21), sendo que os seus respectivos valores de R_f são mostrados na Tabela 3. Em todos os casos, manchas foram reveladas apenas para as amostras que contêm os princípios ativos 25C-NBOMe (S17), 25B-NBOMe (S19) e 25I-NBOMe (S1-S9 e S18). Eles apresentam o mesmo valor de R_f ($\approx 0,50$), entretanto, para as amostras S4, S7 e S8, uma segunda mancha foi revelada com R_f de 0,15. Apesar de não ser utilizado material de referência para as análises de CCD, essas amostras foram previamente identificadas pela técnica de ESI(+)-FT-ICR MS e ESI(+)-MS/MS, em que a primeira mancha de $R_f = 0,50$ deve corresponder aos compostos da classe NBOMe. Já a segunda mancha pode corresponder a um subproduto da síntese, 1-metoxi-4propil-benzeno, de massa molar (M_w) de 150 Da (detectado por CG-EM). Apesar dos compostos 25C-NBOMe, 25B-NBOMe e 25I-NBOMe apresentarem massas molares e fórmulas moleculares diferentes, a similar estrutura química e polaridade existente entre elas justificam a detecção de uma mancha com o mesmo valor de R_f (amostras S17, S18 e S19). Para as amostras S5, S9-S12, S15, S16, S20 e S21 nenhuma mancha foi detectada. Isso sugere que os analitos presentes (LSD, DOB e DOC) possuem concentrações abaixo do limite de detecção (LOD) do sistema de CCD revelado com lâmpada na região do UV a $\lambda = 254$ nm.

Fazendo uma analogia com o resultado de CCD, **Figura 2**, os espectros eletrônicos de absorção na região do UV-Vis (200 a 700 nm) para os compostos 25C-, 25B- e 25I-NBOMe e LSD são mostrados na Figura 3. Percebe-se que os espectros de UV-Vis para os compostos NBOMes apresentam duas bandas com um máximo de absorção em 282 e 296 nm (correspondendo a transição $n \rightarrow \pi^*$). Já o extrato orgânico contendo LSD apresenta menores valores de absorbância para essa mesma faixa de comprimento de onda. Os resultados negativos observados para os selos contendo LSD corroboram com o elevado sinal/ruído observado pelos dados de ESI(+)-FT-ICR MS, e serão apresentados posteriormente. Com o objetivo de melhorar a

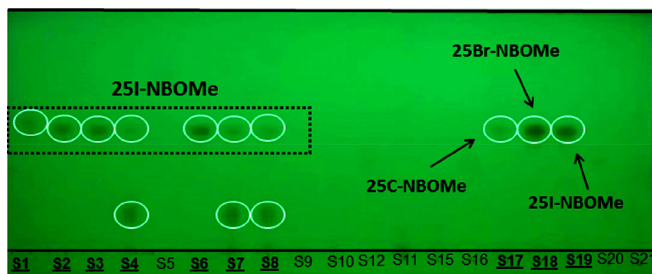


Figura 2. Sistema de CCD usando como eluente uma mistura ternária contendo hexano/dietilamina/tolueno (75/15/10 v/v %). As amostras em negrito e sublinhadas apresentaram valores de R_f similares podendo corresponder a classe de compostos NBOMes (Tabela 3)

Tabela 3. Valores de R_f obtidos a partir dos dados de CCD da Figura 2

AMOSTRA	R_{f1}	R_{f2}	AMOSTRA	R_{f1}	R_{f2}
S1	0,525	-	S12	-	-
S2	0,500	-	S11	-	-
S3	0,500	-	S15	-	-
S4	0,150	0,475	S16	-	-
S5	0,500	-	S17	0,500	-
S6	0,500	-	S18	0,500	-
S7	0,150	0,475	S19	0,500	-
S8	0,150	0,475	S20	-	-
S9	-	-	S21	-	-
S10	-	-			

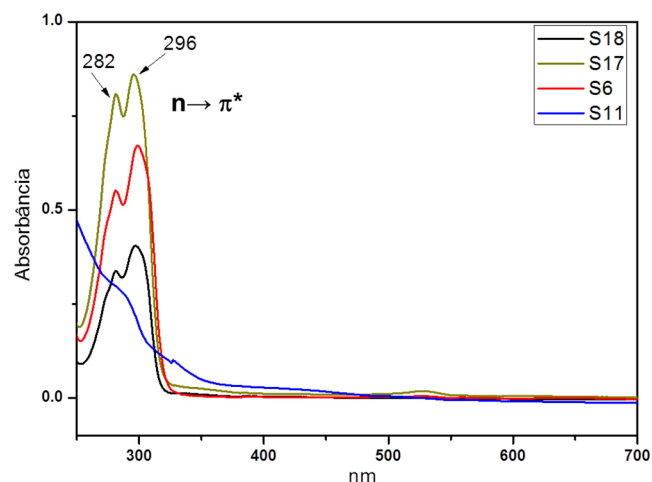


Figura 3. Espectro eletrônico na região do UV-Vis para soluções contendo o princípio ativo LSD (amostra S11), 25C-NBOMe (amostra S17), 25B-NBOMe (amostra S18) e 25I-NBOMe (amostras S6)

sensibilidade da técnica de CCD, outra lâmpada na região do UV foi testada com $\lambda = 365$ nm. Entretanto, neste caso, nenhuma mancha foi detectada dentro da câmara de UV-Vis.

ATR-FTIR

Os espectros de ATR-FTIR foram adquiridos para nove amostras (S1-S8 e S13), diretamente sobre a superfície dos selos na região de 4000 cm^{-1} a 650 cm^{-1} . Os espectros de ATR-FTIR foram sobrepostos a fim de se caracterizar as principais bandas de absorção da substância 25I-NBOMe (bandas 1 a 6, Figura 4).

A banda na forma de duplete na região de 3600-3200 cm^{-1} (banda 1) corresponde à deformação axial N-H do grupo amina. Já as bandas nas regiões de 2917-2849 cm^{-1} (banda 2) e de 1434 cm^{-1} (banda 3) correspondem à deformação axial C-H de carbono sp^3 (grupos CH_3 e CH_2) e deformação angular simétrica no plano de CH_2 , respectivamente. A identificação do grupo éter é feita a partir da deformação axial intensa C—O—C em 1024 cm^{-1} (banda 5). O anel aromático é identificado a partir da deformação angular fora do plano de C-H em 766 cm^{-1} (banda 6) que é característica de anel aromático di-substituído. Por fim, a presença do iodo pode ser caracterizada pela deformação axial C-I na região de 1205 cm^{-1} (banda 4). Outra banda característica dessa deformação é encontrada na região de 600-500 cm^{-1} . Entretanto, todos os experimentos foram feitos na região de 4000 cm^{-1} a 650 cm^{-1} .

Como sugerido pelos dados de CCD e ESI(+)-FT-ICR MS, Figuras 2 e 6, a amostra S5 não apresenta o princípio ativo

25I-NBOMe. Analisando o espectro de ATR-FTIR isoladamente, Figura 2S, nota-se principalmente a ausência de deformações de 1205 e 766 cm^{-1} , o que elimina a presença do composto 25I-NBOMe. Além disso, devido à falta de material de referência e a presença de inúmeros contaminantes em amostras sintéticas, é essencial que para uma análise forense, a técnica de ATR-FTIR seja combinada a métodos multivariados de classificação, fornecendo, assim, evidências inquestionáveis no que tange a detecção de novas *designer drugs*.

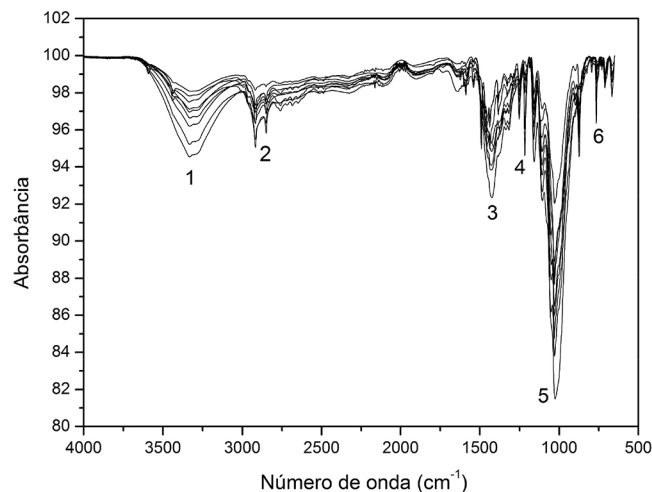


Figura 4. Espectros de ATR-FTIR sobrepostos para as amostras S1-S8 e S13

CG-EM

O cromatograma de uma solução contendo o princípio ativo 25I-NBOMe (amostra S14) é mostrado na Figura 5a. O tempo de retenção em 10,35 minutos corresponde ao composto 25I-NBOMe e seu espectro de EI-MS é mostrado na Figura 5b. Uma boa correlação é observada com a biblioteca do National Institute of Standards and

Tabela 4. Atribuições das bandas dos espectros de ATR-FTIR da Figura 4

Bandas	cm^{-1}	Atribuições
1	3500-3100	Deformação axial de N—H
2	2917 – 2849	Deformação axial C—H de carbono sp^3
3	1434	Deformação angular (CH_2)
4	1250-1200	Deformações axial C-I
5	1024	Estiramento axial C-O-C
6	766	Anel aromático, di-substituído

Technology (NIST), Figura 5c, sendo algumas perdas identificadas como HI, OCH_3 e $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{INO}_2$. Vale destacar que a molécula de 25I-NBOMe não tem o seu íon molecular detectado. Isso é devido a sua alta massa molar e labilidade química, podendo esse problema ser contornado por meio da diminuição da energia da fonte de EI (< 70 eV) ou pelo método de ionização química (CI). A não detecção do íon molecular do composto 25I-NBOMe têm produzidos resultados inconclusivos para diferenciação entre os compostos NBOMes, onde os espectros de EI-MS gerados são bastante similares.

ESI(+)-FT-ICR MS e ESI(+)-MS/MS

A Figura 6a-b mostra os espectros de ESI(+)-FT-ICR MS para as amostras de selo contendo os compostos LSD (S11) e 25I-NBOMe (S7). O composto LSD (Figura 6a) pode ser identificado a partir da detecção do sinal de m/z 324,2072 correspondendo à molécula na sua forma monoprotonada, o cátion $[\text{M} + \text{H}]^+$, sendo $\text{M} = \text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}$, com exatidão de massas de -0,5 ppm ($m/z_{\text{teórico}} = 324,2070$) e DBE = 10. Já a molécula de 25I-NBOMe presente na amostra S7, Figura 6b, pode ser detectada na forma de íon $[\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{INO}_3 + \text{H}]^+$ com erro de massa de 0,2 ppm e DBE 8. O DBE = 8 se deve à presença de dois anéis aromáticos na estrutura do composto 25I-NBOMe, sendo que cada anel contribui com 4 insaturações (DBE = 4). Além do 25I-NBOMe,

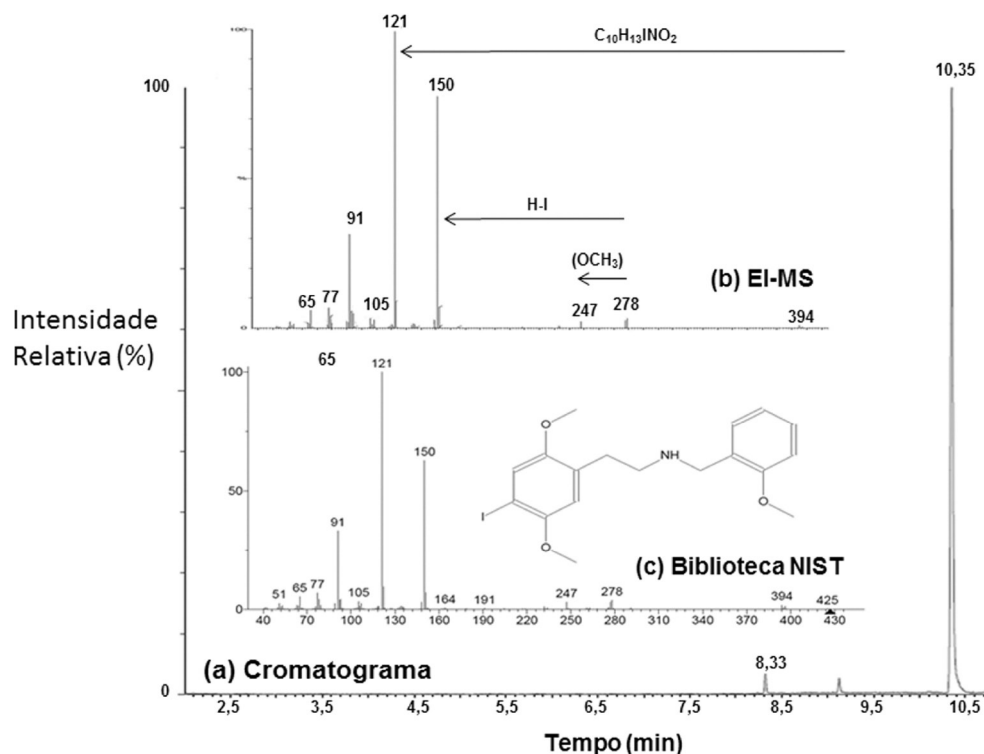


Figura 5. Cromatograma de uma típica amostra de selo contendo o composto 25I-NBOMe

outros sinais são detectados como os íons de m/z 238, 1438, 302, 1751 e 338, 3417. A Tabela 5 mostra os valores de m/z medido e teórico, fórmula molecular, DBE e erro de massas encontrado para esses sinais. Baseado nos valores de DBE e da fórmula molecular obtida a partir de uma exatidão de massas menor do que 1 ppm, duas estruturas químicas são sugeridas para os íons de m/z 302 e 238: os compostos 25H-NBOMe e um derivado da anfetamina, o metilenedioximetoxietilamfetamina, respectivamente, Tabela 5.

Para confirmar a estrutura e conectividade da molécula de 25I-NBOMe, a Figura 6c mostra os experimentos de CID para o íon de m/z 428 onde as principais perdas neutras são identificadas no espectro de ESI(+)-MS/MS. A conectividade da molécula de 25I-NBOMe é confirmada pelas perdas de 122 Da ($C_8H_{10}O$), 127 (I), 137 Da ($C_8H_{11}NO$)

e 307 Da ($C_9H_{12}INO_2$), formando os fragmentos de m/z 306, 301, 291 e 121, respectivamente. A proposta de fragmentação é sugerida pela Figura 7b. Entretanto, os experimentos de CID e de ATR-FTIR também revelam a indicação de uma amina primária. A banda na forma de duplete na região de $3600-3200\text{ cm}^{-1}$ do espectro de ATR-FTIR e a perda neutra de 17 Da (NH_3) produzindo o fragmento de m/z 411, não descartam a presença de um isômero do 25I-NBOMe contendo uma amina primária. Essa hipótese corrobora com os resultados observados na literatura para os experimentos de CID para outras *designer drugs* como DOB, DOC, 25C-NBOMe e 25B-NBOMe.¹² Em todos os casos, uma perda neutra de 17 Da foi observada. Uma proposta de um isômero da molécula de 25I-NBOMe é feita na Figura 7a baseada nos resultados de ESI(+)-MS/MS. Portanto, esse resultado

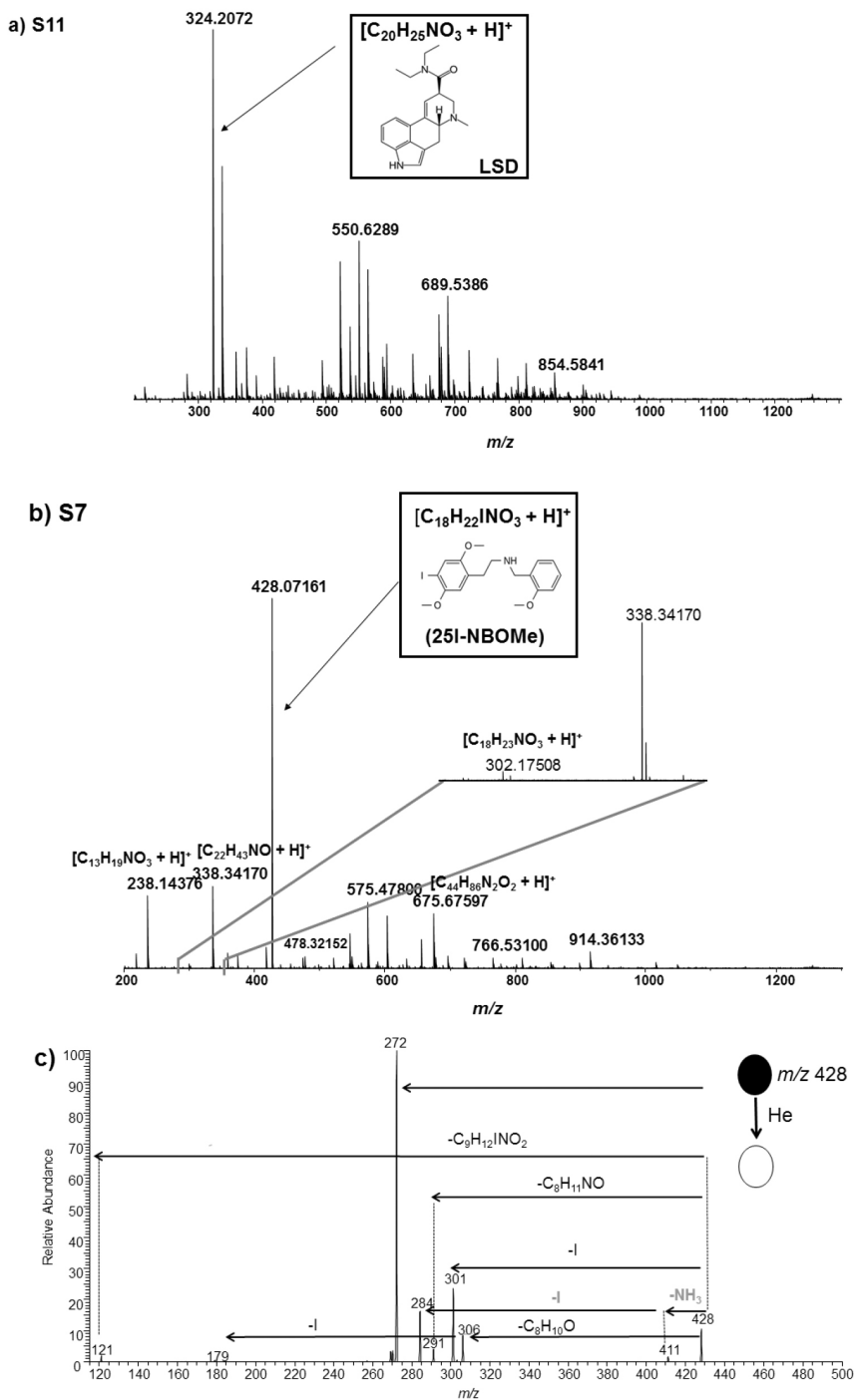
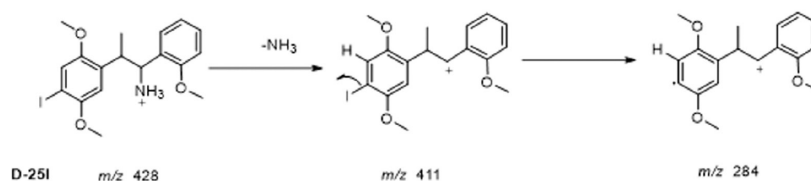
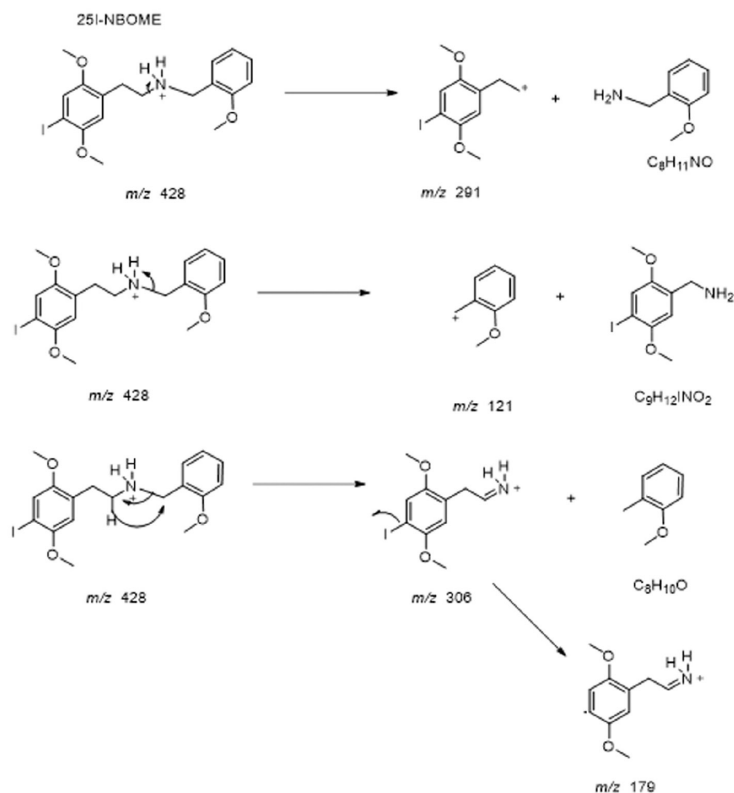


Figura 6. Espectros de ESI(+)-FT-ICR MS para as amostras (a) S11, e (b) S7 e experimentos de (c) CID para o íon de m/z 428

Tabela 5. Estrutura química proposta a partir de valores de m/z medidos, erros de massa e DBEs para os dados de ESI(+)-FT-ICR MS da Figura 6b

m/z medido	m/z teórico	Fórmula Mínima	DBE	Erro [ppm]	Estrutura química proposta
238.1438	238.1438	C ₁₃ H ₂₀ NO ₃	5	0.0	
302.1751	302.1751	C ₁₈ H ₂₄ NO ₃	8	0.0	
338.3417	338.3417	C ₂₂ H ₄₄ NO	2	0.1	-
428.0716	428.0725	C ₁₈ H ₂₃ INO ₃	8	0.2	

(a) Proposta 1**(b) Proposta 2****Figura 7.** Propostas de fragmentação sugeridas para o espectro de ESI(+)-MS/MS (Figura 6c). A proposta 1 (7a) explica a formação dos fragmentos de m/z 411 e 284, corroborando com a presença de um isômero do 25I-NBOME contendo uma amina primária. A proposta 2 (7b) explica a maioria dos fragmentos presentes corroborando com a estrutura e conectividade da molécula de 25I-NBOME

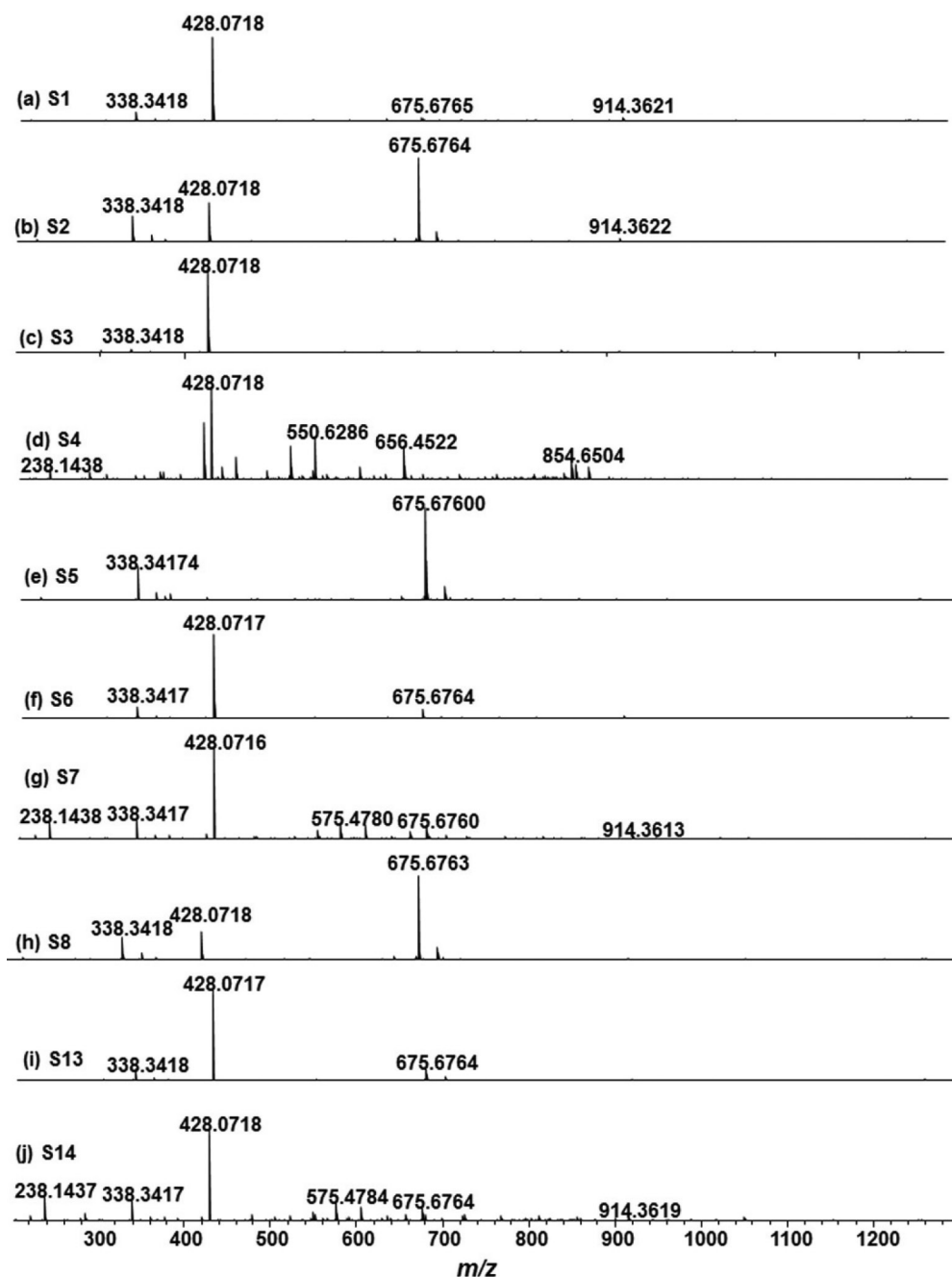


Figura 8. Espectros de ESI(+)-FT-ICR MS das amostras (a) S1, (b) S2, (c) S3, (d) S4, (e) S5, (f) S6, (g) S7, (h) S8, (i) S13 e (j) S14

reflete a importância de políticas públicas que facilitem a compra de material de referência para o estudo dessas novas *designer drugs* que são proscritas pela ANVISA. Adicionalmente, torna-se essencial, em alguns casos, a necessidade da extração desses analitos e posterior caracterização química.

A Figura 8 mostra os espectros de ESI(+)-FT-ICR MS de outras nove amostras de selos de duas diferentes apreensões da PC do ES (S1-S8 e S13-S14). Um perfil químico similar é obtido em quase todas as amostras, onde na maioria dos casos a espécie 25I-NBOMe apresenta a maior intensidade relativa. Similar aos dados de ATR-FTIR e CCD, a amostra S5 não contém o composto 25I-NBOMe, sendo identificado apenas os íons de m/z 338 e 675. O íon de m/z 338 apresenta fórmula molecular com $M = C_{22}H_{43}NO$ e DBE = 2, enquanto que o íon de m/z 675 corresponde ao seu respectivo dímero $[2M + H]^+$, Tabela 5.

CONCLUSÃO

Neste artigo, diferentes métodos analíticos (CCD, UV-Vis, ATR-FTIR, GC-MS e ESI(+)-FT-ICR MS) foram empregados na caracterização de selos contendo, principalmente, o princípio ativo 25I-NBOMe.

Ao analisar inicialmente métodos de menor seletividade e sensibilidade analítica, a técnica de CCD mostrou-se eficiente para identificar manchas referentes aos compostos 25C-, 25B- e 25I-NBOMe (todos com R_f de $\approx 0,50$). Vale destacar que apesar das massas molares dos compostos 25C-, 25B- e 25I-NBOMe serem diferentes, suas estruturas químicas semelhantes proporcionaram um mesmo fator de retenção ou R_f . Para os compostos DOB, DOC e LSD, nenhuma mancha foi detectada. Provavelmente, essas espécies estão em menores concentrações. Adicionalmente, a técnica de UV-Vis pode

ser útil na identificação dos compostos NBOMes, onde, em todos os casos, duas bandas foram identificadas na região do ultravioleta com máximos em 280 e 300 nm.

Entre todos os métodos analíticos empregados, a técnica de ATR-FTIR destaca-se por preservar a integridade físico-química da prova material: o selo. A combinação de ATR-FTIR com métodos multivariados e padrões de referência pode ser uma excelente alternativa na identificação e classificação das *designer drugs*, levando em consideração sempre as figuras de mérito como linearidade, limite de detecção, quantificação e seletividade.

As técnicas de GC-MS e ESI-MS apresentaram melhores seletividades analíticas entre os métodos utilizados. Além do perfil cromatográfico, a técnica de GC-MS é capaz de informar a impressão digital do 25I-NBOMe através do espectro de EI-MS e diferenciá-los em relação as outras *designer drugs*. Esta técnica é tradicionalmente utilizada pelos laboratórios forenses e bastante divulgada na literatura.^{17,18} A identificação do íon molecular (M^+) para a molécula de 25I-NBOMe ($M_w = 427$ Da) pode se realizada por experimentos de CI-MS ou pela diminuição da energia de fragmentação na fonte de EI (< 70 eV). Para contornar o problema de identificação do íon molecular, a espectrometria de massas de alta resolução (como a técnica de ESI-MS) permite a detecção da fórmula mínima do 25I-NBOMe ($C_{18}H_{22}INO_3$), seu grau de insaturação (DBE = 8) e sua estrutura química (a partir de experimentos de CID) com exatidão de massas menor do que 1 ppm. Além disso, os resultados de ATR-FTIR e ESI-MS/MS sugerem a presença de um isômero da molécula de 25I-NBOMe. Em geral, pode concluir que técnicas analíticas de alta resolução como espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear são fundamentais na caracterização de drogas de abuso ou na produção de material de referência.

MATERIAL SUPLEMENTAR

As Figuras 1S e 2S encontram-se disponíveis para download em <http://quimicanova.s bq.org.br> na forma de arquivo .pdf com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Núcleo de Competências em Química do Petróleo (UFES) pelas análises de ATR-FTIR, UV-VIS e ESI(+)-FT-ICR MS. Os autores também agradecem a FAPES (65921380/2013), CAPES (23038.007083/2014-40) e CNPq (445987/2014-6) pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Bulcão, R.; Garcia, S. C.; Limberger, R. P.; Baierle, M.; Arbo, M. D.; Chasin, A. A. M.; Thiesen, F. V.; Tavares, R.; *Quim. Nova* **2012**, *35*, 149.
2. Guerreiro, D. F.; Carmo, A. L.; Silva, J. A.; Navarro, R.; Góis, C.; *Acta Med. Port.* **2011**, *24*, 739.
3. <http://www.unodc.org>, acessada em Outubro de 2014.
4. Wohlfarth, A.; Weinmann, W.; *Bioanalysis* **2012**, *2*, 965.
5. Brandt, S. D.; Sumnall, H. R.; Measham, F.; Cole, J.; *Drug Test. Anal.* **2010**, *8*, 377.
6. Romão, W.; Schwab, N. V.; Bueno, M. I. M. S.; Sparrapan, R.; Eberlin, M. N.; Martyni, A.; Sabino, B. D.; Maldaner, A. O.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 1717.
7. Romão, W.; Lalli, P. M.; Franco, M. F.; Sanvido, G.; Schwab, N. V.; Lanaro, R.; Costa, J. L.; Sabino, B. D.; Bueno, M. I. M. S.; Sa, G. F.; Daroda, R. J.; Souza, V.; Eberlin, M. N.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *400*, 3053.
8. Prosser, J. M.; Nelson, L. S.; *J. Med. Toxicol.* **2011**, *8*, 33.
9. Power, D.; McDermott, S. D.; Talbot, B.; O'Brien, J. E.; Kavanagh, P.; *Mass Spectrom.* **2012**, *26*, 2601.
10. Romão, W.; Sabino, B. D.; Bueno, M. I. M. S.; Vaz, B. G.; Júnior, A. C.; Maldaner, A. O.; Castro, E. V. R.; Lordeiro, R. A.; Nascentes, C. C.; Eberlin, M. N.; Augusti, R.; *J. Forensic Sci.* **2012**, *57*, 1307.
11. Sabino, B. D.; Sodré, M. L.; Alves, E. A.; Rozembaum, H. F.; Alonso, F. O. M.; Correa D. N.; Eberlin, M. N.; Romão, W.; *Braz. J. Anal. Chem.* **2010**, *1*, 6.
12. Carvalho, T. C.; Oliveira, I. F.; Vanini, G.; Souza, L. M.; Neto, A. C.; Machado, L. F.; Ambrosio, J. C. L.; Lacerda V.; Vaz, B. G.; Romão, W.; *Anal. Methods*, submetido.
13. Souza, L. M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil, Vitória, 2014.
14. Costa, H. B.; Souza, L. M.; Soprani, L. C.; Oliveira, B. G.; Ogawa, E. M.; Korres, A. M. N.; Ventura, J. A.; Romão, W.; *Food Chem.* **2014**, *174*, 139.
15. Destefani, C. A.; Motta, L. C.; Vanini, G.; Souza, L. M.; Filho, J. F. A.; Macrino, C. J.; Silva, E. M.; Greco, S. J.; Endringer, D. C.; Romão, W.; *Microchem. J.* **2014**, *116*, 216.
16. Nascimento, I. R.; Costa, H. B.; Souza, L. M.; Soprani, L. C.; Merlo, B. B.; Romão, W.; *Anal. Methods* **2015**, *7*, 1415.
17. Karim, M.; Abdel, H.; DeRuiter, J.; Randall, C.; *J. Forensic Sci.* **2015**, *60*, 285.
18. Carina, S. D.; Wink, M. J.; Golo, M. J.; Meyer, J.; Zapp, H.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2015**, *407*, 1545.