

MÉTODOS ANALÍTICOS DE IDENTIFICAÇÃO DE CANABINOIDES SINTÉTICOS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Gabriella Hamú Giudice

Bacharela em Química pela Universidade de Brasília.

Especialista em Farmácia e Química Forense pelo Instituto de Estudos Farmacêuticos e Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

E-mail: gabriella.giudice@gmail.com

RESUMO

Canabinoides sintéticos (CS) são drogas desenvolvidas pelos seres humanos que interagem com os receptores canabinoides CB1 e CB2 de tal modo que podem apresentar efeitos maiores que os dos canabinoides naturais, como o Δ -tetrahydrocannabinol. A elevada produção de tal classe de psicotrópico é rentável devido ao fato de que a identificação dessas substâncias em laboratórios forenses ainda não é capaz de acompanhar seu rápido desenvolvimento por parte dos traficantes. Dessa forma, faz-se necessário, não só desenvolver novas técnicas, como também aperfeiçoar os métodos existentes. Para tal, recorreu-se a uma revisão bibliográfica de métodos analíticos de detecção e de identificação dos canabinoides sintéticos.

Palavras-chave: Canabinoides sintéticos, derivados, métodos analíticos, identificação.

ANALYTICAL METHODS FOR IDENTIFICATION OF SYNTHETIC CANNABINOIDS

ABSTRACT

Synthetic Cannabinoids are human developed drugs that interact with the endocannabinoid system, namely CB1 and CB2 receptors so that they can generate bigger and stronger effects than those caused by natural cannabinoids, such as Δ -tetrahydrocannabinol. The massive production of such psychotropic class is profitable since those substances are not identified in forensics laboratories as fast as they are produced by drug dealers. Hence, it is not only necessary to develop new techniques but also refine the existing ones. For such purpose, it was made a literature review of analytical methods for detection and identification of synthetic cannabinoids.

Keywords: Synthetic cannabinoids, derivatives, analytical methods, identification.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, diversos compostos psicotrópicos sintéticos de várias classes de drogas surgiram no mundo. Sua alta produção se deve ao fato de que pequenas alterações estruturais são capazes de gerar substâncias que não estão descritas nas listas de drogas ilícitas e, no entanto, causam efeitos psicoativos semelhantes ou até mais fortes que os de seus precursores (STRANO-ROSSI et al, 2014).

Nesse contexto de consumo de novas substâncias psicotrópicas, os canabinoides sintéticos (CS) são os mais comuns (SHEVYRIN et al, 2014a). Os primeiros canabinoides sintéticos surgiram no mercado em 2004 e, atualmente, uma grande quantidade já se encontra em listas de substâncias proibidas ao redor do mundo (STRANO-ROSSI, 2014).

Os compostos canabimiméticos são desenvolvidos desde 1960 devido às propriedades analgésicas e anti-inflamatórias do Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) (DUNHAM et al, 2012). Sua produção visa a interação com os receptores canabinoides CB1 e CB2 (ELSOHLY et al, 2014). Tal classe de sintéticos tornou-se atraente devido ao fato de que os CS podem apresentar maior interação com os receptores que a exibida pelo Δ^9 -THC (ZNALEZIONA et al, 2015; AKAMATSU et al, 2014).

Os CS não são extraídos de folhas da planta da maconha como o Δ^9 -THC. Dessa forma, não possuem todas as suas possíveis estruturas elucidadas. Para contornar legislações vigentes, os traficantes oferecem drogas análogas às conhecidas, com estruturas diferentes e efeitos semelhantes. Essa é a razão pela qual a elucidação eficiente de estruturas de novos compostos psicoativos, como os canabinoides sintéticos, constitui um desafio profundo para peritos forenses (SHEVYRIN et al, 2013).

Em março de 2011, cinco canabinoides sintéticos foram inseridos na lista de substâncias controladas nos Estados Unidos da América. Em julho de 2012, 31 novas substâncias foram adicionadas à lista (DUNHAM et al, 2012), enquanto no Brasil, apenas um derivado sintético encontrava-se na lista de substância proibidas em 2010 (RDC Nº 21 de 17 de junho de 2010) (ALVES et al, 2012) e em 2014, já existiam cerca de 20 CS proscritos. A atualização da Portaria SVS/MS 344/98 feita pela RDC nº 79, de 23 de maio de 2016 incluiu classes estruturais genéricas do grupo canabinoides sintéticos nas listas de substâncias proscritas, conforme modelos internacionais, como estratégia para o combate ao rápido surgimento dessas drogas.

A constante modificação estrutural e a venda imediata desses compostos faz com que os laboratórios criminalísticos do mundo precisem sempre aperfeiçoar os métodos analíticos de detecção e de identificação de novas drogas disponíveis (FREIJO JUNIOR et al, 2014).

Os canabinoides sintéticos de primeira geração presentes nas misturas de ervas (comercializada como “spice”) eram basicamente compostos de homólogos C8 do canabinoide não clássico CP-47,497 e do aminoalquilindol JWH-018 (ZNALEZIONA et al, 2015), que possui quatro vezes mais afinidade de ligação com os receptores canabinoides que o próprio Δ^9 -THC. Esses compostos, assim como os canabinoides de segunda geração, não mais estão disponíveis no mercado mundial (SHANKS et al, 2012; MOOSMANN et al, 2012). As estruturas químicas dessas substâncias são demonstradas na Figura 1.

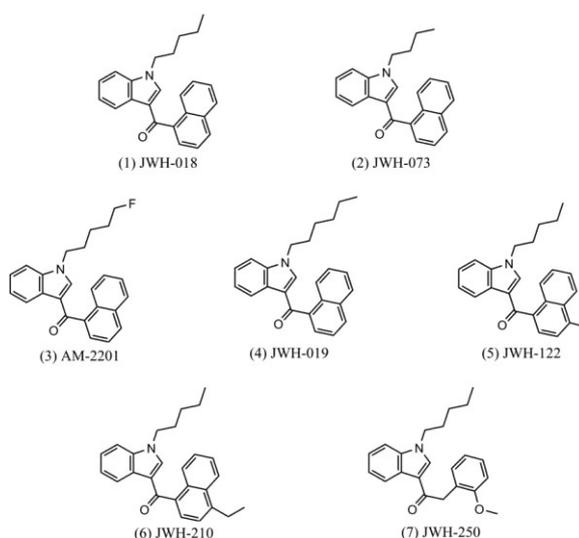


Figura 1: Estruturas químicas dos canabinoides sintéticos de primeira e segunda geração. (SHANKS et al, 2013).

Os CS de terceira geração, como os A796, 260, MAM- 2201, UR-144, URB597 e XLR-11, surgiram no Mercado em 2013 (SHANKS et al, 2013), ano em que a expansão dos CS contendo o núcleo indol-3-ilcarbonil modificado tornou-se massiva (SHEVYRIN et al, 2014b).

Além da classificação por geração, outra forma de categorizar esses derivados sintéticos é pela separação por estruturas químicas. Assim, apesar de a nomenclatura e a classificação para os canabinoides sintéticos não serem totalmente sistematizadas (ZNALEZIONA et al, 2015), as subclasses dos canabinoides sintéticos incluem:

- a) Naftoindois (JWH- 015, JWH-018, JWH-019, JWH-073, JWH-081, JWH-122, JWH-200, JWH-210 e JWH-398);
- b) Fenilacetilindois (JWH-203, JWH-250, JWH-251, e RCS-8);
- c) Benzoilindois (RCS-4 and AM694);
- d) Ciclo-hexilfenóis (CP 47,497 C7 e análogos C8) e
- e) Dibenzopiranos (HU-210) (SCHEIDWEILER, et al, 2014).

Os primeiros métodos publicados de identificação de canabinoides sintéticos em material vegetal usavam Cromatografia Líquida (CL) ou Cromatografia Gasosa acoplada com Espectrometria de Massas (CG-MS) (CASTRO et al, 2013).

Desde então, diversas formas de identificação de CS em diferentes matrizes foram relatadas. Dentre elas, está a Espectrometria de Massas com analisadores por Tempo de Voo (TOF-MS) que fornece espectro com alta sensibilidade, resolução e acurácia. Para uma identificação mais confiável, o sistema híbrido do tipo QTOF é mais indicado.

Outro método indicado para detecção confiável é p MS^E. Ele permite colher informação de moléculas desprotonadas e de seus fragmentos de íons. Não obstante, métodos que utilizam parâmetros práticos, tais como Padrões de Isótopos ou Equivalência de Dulpça Ligação fornecem identificação confiável e possibilitam a análise sem o uso imediato de padrões de referência (IBÁÑEZ et al, 2013).

Outras técnicas utilizadas para detecção e identificação de CS são Cromatografia em Camada Delgada (CCD), Espectrometria de Massas com detector de quadrupolo simples, Cromatografia Líquida de Alta Performance (CLAE), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e vários outros (MARGINEAN et al, 2015).

Ao levar em conta o crescimento significativo de CS no Mercado mundial e as peculiaridades de cada classe desses compostos, é necessário que existam métodos rápidos, seletivos, sensíveis e eficientes de monitoramento de canabinoides sintéticos apreendidos e presentes fluidos corporais (ZNALEZIONA et al, 2015).

Portanto, ainda que o desenvolvimento de novas técnicas seja essencial, é indispensável o aperfeiçoamento das técnicas espectroscópicas já existentes (JOSHI et al, 2014).

METODOLOGIA

O presente trabalho é uma pesquisa bibliográfica, da modalidade teórica. Foram realizadas consultas literárias relativas ao assunto em estudo em artigos publicados e em livros.

O acervo consultado foi o Pubmed por meio de palavras-chave em português e em inglês relacionadas ao assunto do trabalho em questão. Considerou-se artigos publicados de 2012 até manuscritos aceitos e corrigidos de 2015.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CROMATOGRAFIA GASOSA (CG)

A separação por meio das cromatografias baseia-se na distribuição da amostra entre uma fase estacionária (FE) e outra fase líquida (fase móvel FM) durante o transporte na coluna. Os compostos retidos mais fortemente na FE movem-se mais lentamente através da coluna e seus sinais levam um maior tempo para surgir nos cromatogramas. Dessa forma, ao escolher uma FE compatível com o analito, a ordem de eluição é determinada pelo ponto de ebulição dos eluentes.

Esse processo de *eluição* consiste no arraste da amostra através da coluna por adição contínua da FM. Dessa forma, a eficiência da separação de dois solutos depende da velocidade de eluição e a resolução da coluna é proporcional à raiz quadrada do número de pratos teóricos (HARRIS, 2012, p. 607).

A fase móvel em CG é chamada de gás de arraste e deve ser quimicamente inerte. Nesse sentido, o gás hélio é comumente utilizado, assim como o hidrogênio e nitrogênio

(HARRIS, 2012, p. 606). Suas vazões são reguladas por um regulador de pressão de dois estágios no cilindro e por um regulador de pressão no cromatógrafo (HOLLER et al, 2009, p. 804).

O fornecedor de gás é conectado ao injetor e ao detector. O primeiro deve garantir a injeção na velocidade correta e com volume apropriado para que não ocorra alargamento de sinal. Sua temperatura normalmente é mantida a cerca de 50^oC acima do ponto de ebulição do composto menos volátil da amostra para que ela seja volatilizada imediatamente e se encaminhe para a coluna (HOLLER et al, 2009, p. 805).

As duas formas mais utilizadas de injeção da amostra são o *Split* - método comum em colunas capilares no qual apenas uma parte da amostra vaporizada é transferida a coluna – e o *Splitless* – usado para soluções pouco concentradas (HARRIS, 2012, p. 618).

Entre o injetor e o detector encontra-se a coluna cromatográfica propriamente dita que pode ser *coluna recheada* ou *coluna capilar*. As colunas capilares são de dois tipos básicos, a *coluna capilar com parede recoberta (WCOT)* e a *coluna capilar com suporte recoberto (SCOT)* que possui maior capacidade de amostra. As colunas mais utilizadas são as *colunas capilares com parede recoberta a base de sílica (FSWC)* que são mais resistentes, flexíveis e possuem menor reatividade com os componentes da amostra (HOLLER et al, 2009, p. 815).

A fase estacionária que recobre a parede da coluna na CG normalmente é um líquido viscoso de alto ponto de ebulição. Ele deve ser estável e inerte, pois a interação desses polímeros com o analito normalmente acarreta em alargamentos do sinal.

A temperatura da coluna é uma variável importante para se obter boa resolução. Nesse sentido, usa-se a *programação de temperatura*, na qual a temperatura da coluna é aumentada a medida que a separação se processa, de tal forma que a afinidade de uma substância pela FM é alterada e os compostos mais fortemente ligados à FE possam sair no cromatograma em tempos aceitáveis, sem que a resolução dos sinais dos compostos mais voláteis seja comprometida (HARRIS, 2012, p. 614).

Após a passagem pela coluna, os componentes da amostra alcançam o detector.

- Detectores por ionização em chama – FID (*flame ionization detector*)

O efluente da coluna é direcionado a uma chama de ar e hidrogênio e sofre ionização. Grande parte dos compostos orgânicos produzem íons na temperatura da chama. Estes íons geram um corrente elétrica que é detectada pelo eletrodo localizado acima da chama. Ela é uma técnica sensível à massa e não à concentração, por isso, mudanças na vazão da fase móvel exercem pouca influência sobre a resposta gerada (HOLLER et al, 2009, p. 807).

O FID é sensível para a maioria dos compostos orgânicos, possui alta detectabilidade, larga faixa linear de resposta, baixo ruído, é robusto, no entanto, destrói a amostra após a pirólise (HOLLER et al, 2009, p. 808).

- Detectores por condutividade térmica – DCT (*termal conductivity detector*)

Útil em colunas empacotadas e menos sensível em colunas capilares (HARRIS, 2012, p. 621). Possui um corpo quente (filamento de metal) aquecido eletricamente, cuja temperatura depende da condutividade térmica do gás que o envolve.

O efluente passa por tal filamento com uma velocidade que depende de sua massa molecular. Como as condutividades térmicas do hélio e do hidrogênio são de seis a dez vezes maiores do que as condutividades dos compostos orgânicos, pequenas quantidades desses compostos são detectáveis, por causar grandes diminuições na condutividade térmica do sistema, que acarreta em aumento da temperatura medido no detector (HOLLER et al, 2009, p. 809).

Possuem ampla faixa linear dinâmica, não destroem a amostra, mas possuem detectabilidade relativamente baixa (HOLLER et al, 2009, p. 809).

- Detectores por captura de elétron – ECD (*electron capture detector*)

São dispositivos sensíveis que respondem seletivamente a compostos orgânicos halogenados. A amostra passa da coluna a uma fonte radioativa emissora de partículas beta. O elétron emitido pela fonte ioniza o gás de arraste e gera uma corrente de fundo que

permanece entre um par de eletrodos e, na ausência de moléculas orgânicas, possui intensidade constante. Na presença de espécies eletronegativas, a corrente diminui significativamente após a captura dos elétrons (HOLLER et al, 2009, p. 809).

- Detectores espectrométrico de massas – CG-MS

O final da coluna pode alimentar diretamente um espectrômetro de massas (EM ou MS, do inglês *mass spectrometry*). As fontes de ionização mais comuns em tal equipamento são as de *impacto de elétrons* e de *ionização química*. Os analisadores mais comuns são o *quadropolo* e a *armadilha de íons* (HOLLER et al, 2009, p. 812).

Esse detector varre as massas diversas vezes durante a separação cromatográfica e um gráfico em função da intensidade de íons na sua razão massa/carga é gerado (HOLLER et al, 2009, p. 812-813)

A cromatografia gasosa também tem sido aplicada em série (*tandem*) com a espectrometria de massas ou com a espectrometria de massas com transformada de Fourier para formar os sistemas CG-MS-MS ou CG-MSⁿ (HOLLER et al, 2009, p. 814).

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

A CLAE é a técnica de separação analítica mais utilizada. Ela possui ampla aplicação em substâncias de interesse industrial e é capaz de separar compostos não voláteis ou termicamente instáveis (HOLLER et al, 2009, p. 830).

O tipo de CLAE mais utilizado é a *cromatografia por partição*, na qual a FE é um líquido imiscível com o líquido da FM (HOLLER et al, 2009, p. 842). Os sistemas modernos de cromatografia empregam colunas recheadas com *fase líquida ligada*.

Na *cromatografia líquido-líquido*, a FE é mantida por adsorção física. Na *cromatografia com fase ligada*, a FE é quimicamente ligada aos suportes preparados, normalmente, a partir de composições baseadas em sílica.

Os recheios das colunas de fase ligada são classificados como de *fase reversa* quando a cobertura ligada à sílica tem caráter apolar (HOLLER et al, 2009, p. 843).

A eficiência de uma coluna de CL, medida pela altura dos pratos teóricos, está relacionada ao tamanho das partículas que compõem essa coluna. A medida que as partículas diminuem, a altura dos pratos teóricos também diminui e a eficiência aumenta (HARRIS, 2012, p. 638).

O *alargamento de banda extracoluna* ocorre devido ao fato de que a vazão no centro de tubos abertos é maior que a vazão do líquido adjacente às paredes. Para evitar tal fenômeno, deve-se reduzir o raio da coluna cromatográfica e diminuir os comprimentos das conexões do aparelho (HOLLER et al, 2009, p. 832).

Um equipamento de CLAE possui reservatórios de vidro para os solventes acoplados a degaseificadores. Uma eluição que utiliza apenas uma concentração constante de solventes ou apenas um solvente chama-se *eluição isocrática* (HOLLER et al, 2009, p. 832-833).

Os solventes livres de gases são conduzidos a uma bomba que deve gerar fluxos de alta pressão, reprodutíveis e livres de pulso (HOLLER et al, 2009, p. 833).

O volume da amostra deve ser pequeno para que a injeção seja reprodutível. O método de injeção mais utilizado em CLAE chama-se *loop*. Esse método possui alças intercambiáveis que permitem escolha do volume da amostra de forma reprodutível sem despressurizar o sistema. Os modelos atuais de equipamentos possuem injetores automáticos. (HOLLER et al, 2009, p. 835).

Após modulação da pressão e do fluxo, a amostra atinge a coluna cromatográfica. Normalmente elas são construídas de aço inoxidável, vidro ou compostos poliméricos. Frequentemente, uma *pré-coluna* que contenha a mesma fase estacionária da coluna principal é utilizada antes da coluna analítica para reter partículas finas e evitar que ocorram ligações irreversíveis a algum composto presente no analito (HARRIS, 2012, p. 641).

Ao contrário da CG, a CLAE não possui detectores universais (HOLLER et al, 2009, p. 837).

- Detectores de absorção no UV-VIS

O detector UV é o mais comum na CLAE (HARRIS, 2012, p. 655). Os aparelhos de feixe duplo emitem radiação em dois feixes, um passa pela amostra e outro passa através da célula de referência. Os de feixe único medem e armazenam as intensidades do sistema de solvente e utiliza as medidas para calcular a absorbância da amostra (HOLLER et al, 2009, p. 838).

O cromatograma gerado é um gráfico da absorbância em função do tempo (HOLLER et al, 2009, p. 839).

- Detectores por fluorescência

A maioria desses instrumentos possui transdutores a 90° do feixe de excitação que captura a emissão de fluorescência sem ser influenciado pela radiação da fonte (HOLLER et al, 2009, p. 839).

Eles excitam o eluato com *laser* a medem a fluorescência emitida (HARRIS, 2012, p. 655).

- Detectores espectrométricos de massas

Pode-se dizer que essa é a fusão ideal entre separação e detecção. No entanto, tal combinação apresenta mais problemas do que a junção CG-MS. (HOLLER et al, 2009, p. 841)

Comumente, o sistema CLAE acoplado ao espectrômetro de massas (MS ou EM) é um sistema capilar em nanoescala ligado a uma fonte de ionização (HOLLER et al, 2009, p. 842). A *ionização à pressão atmosférica* e a *ionização por electrospray* são as interfaces mais comuns na CL-MS (HARRIS, 2012, p. 659)

Para obter maior resolução em sistemas complexos, tornou-se possível o acoplamento de dois analisadores de massa em série – *tandem mass spectrometry* – que passa a ser chamado de LC-MS-MS (HOLLER et al, 2009, p. 842).

Os EM em série são normalmente *sistemas triplos quadrupolo, espectrômetros quadrupolo com armadilha de íons* ou *espectrômetro de massas de tempo de voo* (HOLLER et al, 2009, p. 842).

No caso de sistemas MSⁿ, as técnicas mais utilizadas são a *ressonância ciclôtrônica de íons* ou o *espectrômetro de massas com armadilha de íons* (HOLLER et al, 2009, p. 842).

ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Um espectro de massa apresenta a resposta do equipamento contra m/z . Esse valor surge ao ionizar a amostra, acelerar e separar os íons resultantes, por meio de campos elétricos, segundo a razão entre suas massas e cargas elétricas (HOLLER et al, 2009, p. 297).

Essa técnica é muito utilizada como detector para as cromatografias. No caso do CG, a ligação é simples, pois a coluna capilar permite ligação direta ao EM e não sobrecarrega seu sistema de vácuo. No caso da CL, a ligação é mais complicada, pois o líquido proveniente da coluna forma um gás ao evaporar na interface entre a coluna e o espectrômetro de massas que deve ser removido. A *ionização por electrospray* e a *ionização química à pressão atmosférica* são os métodos mais utilizados para as amostras provenientes da cromatografia líquida (HARRIS, 20012, p. 557).

- Ionização por elétrons

Um filamento aquecido emite elétrons que são acelerados por meio de um potencial de 70 eV. Algumas moléculas do analito absorvem essa energia e se ionizam, gerando o *íon*

molecular M^+ , que possui uma carga positiva após perder um elétron. Os íons são empurrados em direção ao analisador (HARRIS, 2012, p. 540).

A interação com o elétron acelerado, muitas vezes é suficiente para não só ionizar a molécula, mas também para fragmentar a amostra. Destarte, o espectro de massa pode apresentar um sinal de baixa intensidade ou um sinal inexistente para íon molecular (HARRIS, 2012, p. 541).

O sinal mais intenso do espectro é o *pico base*, no qual as intensidades dos demais sinais são baseadas.

Elétrons com energias inferiores a 70 eV permitem a formação de íons negativos ao interagirem com átomos eletronegativos (HARRIS, 2012, p. 541). Para detectar íons negativos, deve-se trocar a polaridade dos potenciais elétricos em que os íons são formados e detectados. Dessa forma, um *dinodo de conversão* com potencial positivo é inserido antes do detector (HARRIS, 2012, p. 539).

- Ionização química

Produz menos fragmentação que a ionização por elétrons. A câmara de ionização é preenchida com um gás que é convertido, por meio da interação com elétrons acelerados, em íons e radicais reativos, como o CH_4^+ , CH_5^+ , CH_3^+ , entre outros. O íon CH_5^+ interage com o analito e o protona. Tal reação gera o íon mais abundante no espectro de massas (HARRIS, 2012, p. 541).

- Electrospray ou nebulização de íons

Nessa técnica, a fase líquida proveniente da coluna da CL entra em um nebulizador capilar de aço onde existe um fluxo axial de nitrogênio gasoso. Na EM de íons positivos, o nebulizador é mantido a 0V e a câmara de nebulização, a -3.500V. Para a EM de íon negativos, deve-se inverter os potenciais. O campo elétrico no nebulizador somado ao fluxo gasoso produz um aerossol fino de partículas carregadas (HARRIS, 2012, p. 557).

Os íons positivos produzidos são atraídos em direção a um capilar de vidro e consequentemente, ao espectrômetro de massas, induzidos por um potencial negativo ainda maior, de cerca de -4.500 V. (HARRIS, 2012, p. 557).

O líquido carregado sai pelo capilar e forma um cone, chamado de *cone de Taylor*, e em seguida, forma um filme fino que se dispersa em gotículas pequenas.

Durante a evaporação do solvente, as forças repulsivas dos compostos carregados se igualam às forças de coesão da tensão superficial e a gotícula se rompe, ejetando gotículas ainda menores (HARRIS, 2012, p. 557).

Existe pouca fragmentação na técnica e caso se deseje um aumento desse fenômeno, deve-se utilizar uma dissociação ativada por colisão, na qual o ajuste do potencial do cone seletor controla o grau de fragmentação (HARRIS, 2012, p. 559).

- Ionização química à pressão atmosférica

Essa técnica usa o aquecimento e o fluxo coaxial de N_2 para converter o eluato em aerossol. Assim como a *ionização química na fonte de íons*, a *ionização química à pressão atmosférica* origina íons pela reação em fase gasosa (HARRIS, 2012, p. 559).

A principal diferença entre as técnicas é o alto potencial aplicado em uma agulha de metal que gera um efeito elétrico *corona* (plasma com partículas carregadas) ao redor da agulha, injeta elétrons no aerossol e forma íons (HARRIS, 2012, p. 559).

- Espectrômetro de massa quadrupolar de transmissão

Permite registro da amostra assim que for eluída do CG. Ela passa por um conector aquecido e é ionizada por *impacto de elétrons*. Logo após, entra no filtro de interação quadrupolar. O *quadrupolo* consiste em quatro hastes metálicas que sofrem um potencial elétrico constante e um potencial oscilante de radiofrequência. Os íons são defletidos conforme caminham em direção ao detector. A variação dos potenciais elétricos permite que íons de massas diferentes cheguem ao detector. (HOLLER et al, 2009, p. 301).

Para assegurar a confiabilidade das respostas dos íons de diferentes m/z perante o detector, emprega-se um dinodo de alta energia. Assim, os cátions gerados são atraídos pelo dinodo e libera elétrons. Eles são acelerados na direção do dinodo multiplicador de elétrons contínuo que libera vários outros elétrons e gera o sinal (HARRIS, 2012, p. 550).

- Espectromêtro de massa por tempo de voo (MS TOF)

Um alto potencial elétrico é aplicado a um contraeletrodo diversas vezes por segundo para acelerar e propulsionar elétrons a partir da fonte de íons para a direção de deslocamento, onde não existe potencial aplicado. Idealmente, íons mais leves se deslocariam mais rapidamente que íons mais pesados de mesma energia cinética. Desse modo, o detector identificaria íons baseados em suas massas (HOLLER et al, 2009, p. 304).

Na prática, nem todos os íons emergem da fonte de íons com a mesma energia cinética de forma que íons mais pesados com energia cinética maior que a média podem atingir o detector ao mesmo tempo que os íons mais leves com energia menor que a média. Assim, para que a detecção seja eficiente, insere-se a *região do plano focal* a partir da qual os íons voltam a divergir segundo suas massas (HARRIS, 2012, p. 551).

- MS de captura de íons por quadrupolo tridimensional

Adequado para uso como detector cromatográfico. As substância que eluem da coluna entram no analisador de massas de íons tridimensional através de uma linha de transferência aquecida. Um eletrodo comutador admite elétrons provenientes desse filamento que encontram moléculas do analito e as ionizam. Essa ionização também pode ser feita quimicamente pela adição de um gás reativo que interage com os elétrons (HARRIS, 2012, p. 552).

Um potencial de radiofrequência faz com que os íons circulem dentro da cavidade em trajetórias que dependem de suas razões m/z . Ao aumentar a amplitude do potencial, as trajetórias são desestabilizadas e íons são ejetados, capturados pelo multiplicador de elétron e detectados com grande sensibilidade (HARRIS, 2012, p. 552).

- MS de captura de íons por quadrupolo linear

Apresenta maior eficiência de captura e de aprisionamento que a técnica descrita acima. O método seleciona íons pelo valor de sua razão m/z para serem transmitidos através de um filtro. Um coletor de íons linear cria poços de potencial para coletar os íons em sua parte central. Ao manipular o potencial a qual o sistema está submetido, íons com valores específicos de m/z são ejetados em direção aos detectores (HARRIS, 2012, p. 553).

- MS *Orbitrap*

Nessa técnica, um pacote de íons é introduzido em uma região de campo elétrico. O formato do local de injeção faz com que os íons se movam enquanto não colidirem com alguma molécula. A oscilação desses íons induz uma carga oposta (*carga especular*) no eletrodo externo e, desse modo, atrai partículas de cargas contrárias (HARRIS, 2012, p. 554).

O *orbitrap* contém íons de diferentes valores de m/z e cada composto cria correntes de determinada frequência. O sinal observado é a soma de todos os valores de m/z . (HARRIS, 2012, p. 554).

ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (IV-FT)

O método de Fourier é um procedimento em que a curva a ser analisada é decomposta nos termos seno e cosseno, a série de Fourier (HARRIS, 2012, p. 499). Ele dissocia a curva nos comprimentos de onda que a compõem e evidencia suas intensidades (HARRIS, 2012, p. 501).

A parte mais crítica de um IV-FT é o seu interferômetro. Nele, a radiação proveniente de uma fonte contínua de radiação infravermelha atinge um divisor de feixe que transmite uma parte da radiação e reflete a outra porção (HARRIS, 2012, p. 499).

Uma parte da fração refletida é direcionada a um espelho móvel e outra parte a um espelho estacionário. Os raios refletidos pelos espelhos voltam ao divisor de feixe onde, novamente, parte da radiação é transmitida à amostra e parte é refletida (HARRIS, 2012, p. 500).

Para que a interferência entre os raios refletidos se alterne entre máximos e mínimos, o espelho móvel deve afastar-se do divisor de feixe em velocidade constante, de tal forma que a radiação que atingirá o detector também passará por uma sequência de máximos e mínimos. (HARRIS, 2012, p. 501)

A diferença da distância percorrida pelas duas ondas refletidas é chamada de *atraso*. Um gráfico da intensidade de radiação na saída do interferômetro versus o atraso é chamado de interferograma (HARRIS, 2012, p. 500).

Nos equipamentos de IV-FT, a amostra é colocada entre a saída do interferômetro e o detector, de tal forma que o interferograma gerado contenha o espectro da fonte menos o espectro da amostra que terá absorvido determinados comprimentos de onda (HARRIS, 2012, p. 501).

A radiação IV não é energética o suficiente para gerar transições eletrônicas de forma que sua aplicação é limitada a moléculas que possuem pequenas diferenças de energia entre estados vibracionais e que, ao absorver a radiação, sofram variação no momento de dipolo durante seu movimento rotacional ou vibracional (HOLLER et al, 2009, p. 445).

ABORDAGEM EXPERIMENTAL

Logan et al (2012), usou amostras de misturas herbais compradas e apreendidas que foram escaneadas usando CCD e CL TOF com uso de amostras de padrão.

Os extratos ácido-base e metanólico das amostras foram aplicados para análise em CCD junto a padrões usando dois solventes de arraste diferentes e sete técnicas diversas de

visualizações. Não foi observado diferença nos Tempos de Retenções dos extratos ácido-base, metanólico e amostras padrões.

Parte dos extratos ácido-base foram derivatizados e a parte não derivatizada foi analisada diretamente no CG/EM em coluna capilar à pressão constante com o método de injeção splitless utilizando controle de temperatura e gás hélio como fase móvel. A fração derivatizada foi analisada em sistema similar. No entanto, a rampa de temperatura para esta fração iniciou-se em um valor mais elevado.

Para esse método, não foi possível distinguir entre os pares de isômeros U-210 / HU-211 e o WIN 55,212-2 / 3.

Foram realizados espectros de massa nos matérias de referência. Os espectros obtidos foram comparados aos disponíveis na literatura e a massa molecular e estrutura das amostras foram determinadas por CL TOF.

A análise quantitativa foi feita por meio de CLAE com detector UV-VIS em eluição isocrática e temperatura constante em coluna C18. Este foi o método preferido dos autores. Com ele, os compostos CP 47,497 (C=7 e C=8), CP 55,940, HU-210 / 211 e JWH-133 não foram detectados. No entanto, tais compostos foram quantificados via CG/MS.

A detecção de canabinoides sintéticos sem padrões disponíveis foi realizada por meio de CL acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo.

Musah et al (2012), utilizou o composto JWH-015, da classe dos naftoindóis, e o AM-251, um agonista reverso do receptor CB1. Eles foram dissolvidos em metanol e aplicados em material vegetal seco.

Os canabinoides puros dissolvidos em metanol foram usados como padrão para a análise por meio de espectrômetro de massas com DART (Análise Direta em Tempo Real) como fonte de íon.

Esse processo de ionização é semelhante à ionização química e se baseia na interação à pressão atmosférica de átomos excitados e componentes da amostra. O gás reativo normalmente utilizado é o hélio e gera sinais de íons protonados quando operado

no modo positivo, sendo que os espectros produzidos a partir dos padrões apresentaram sinais em m/z 555,1 e 328,2 para o AM-251 e JWH-015, respectivamente.

A grande vantagem do método é a possibilidade de análise à temperatura e pressão ambiente de forma direta, sem necessidade de preparação da amostra.

Desse modo, as folhas dopadas com a solução metanólica podem ser mantidas entre a fonte de íons e a entrada do analisador de massas por meio de uma pinça, sem necessidade de tratamentos.

O aparelho foi operado com hélio em duas temperaturas (150 °C e 200 °C).

Merola et al (2012), relatou que as técnicas mais utilizadas para análise de canabinoides sintéticos são as cromatografias líquida e gasosa, ambas hifenadas com o EM.

Com a necessidade de técnicas mais rápidas, eficientes e baratas, a miniaturização dos métodos surgiu como boa alternativa instrumental. A nano-CL é uma alternativa ambientalmente amigável e mais rápida, sensível e eficiente que a CL.

A técnica descrita no artigo foi otimizada com detector UV-VIS e com electrospray como método de ionização. A identificação foi feita por meio de um espectrômetro de massas LCQ™ com detector por armadilha de íons acoplado à nano-CL. Assim, a coluna da cromatografia capilar se conecta ao EM por uma interface nano-spray comercial.

O artigo relata a semelhança estrutural entre os compostos do grupo naftoindois, JWH-018, JWH-019, JWH-073, JWH-081, JWH-122, JWH-200, JWH-203, JWH-210, JWH-250, AM- 694, AM-2201 e WIN-55,212-2. Assim, para suprir a necessidade de uma técnica seletiva de forma a separar todos os analitos, foi utilizada uma coluna com os grupos silanois substituídos por hidretos de silício e diversas concentrações para a FM da cromatografia de fase reversa. Para caracterizar inequivocamente os isômeros JWH-019 e JWH-122, foi utilizado o método MS^2 .

Gottardo et al (2012), expõe as cromatografias gasosa e líquida associadas à espectrometria de massas como sendo os métodos mais utilizados para análise e detecção de canabinoides sintéticos. No entanto, tais métodos tradicionais não são simples, rápidos e versáteis, além de possuírem baixo rendimento.

Nesse contexto, os autores apresentam a EM assistida com analisador de tempo voo (TOF) e ionização/desorção a laser assistida por matriz (MALDI) que oferece vantagens na análise de amostras complexas sem a necessidade de separações cromatográficas prévias, para a análise de compostos, tais como JWH-015, JWH-018, JWH-019, JWH-073, JWH-200 (naftoindois), CP 47,497-C8-homólogo (ciclo-hexilfenóis), HU-210 (dibenzopiranos), JWH-250 (fenilacetilindois).

As amostras adquiridas foram homogeneizadas e o espectrômetro de massas operando pelo modo de íons positivo gerou espectro que foi analisado na faixa de m/z 150–550. O foco do trabalho é na preparação da amostra para permitir o uso de um equipamento sensível e seletivo como o apresentado.

Dez amostras livres de drogas foram analisadas por CG-MS e também testaram negativo para o método descrito, assim como 21 testes positivos pelo método concordaram com a análise tradicional via CG-MS.

Moonsman et al (2013), apresenta um método rápido de purificação das misturas vegetais as quais contêm canabinoides sintéticos com o objetivo de adquirir diretamente material de referência para a análise. Para tal, é utilizado Cromatografia Flash em coluna C18, com gradiente de eluição que usa metanol e ácido fórmico como FM.

O método é capaz não só de isolar os compostos de sua matriz vegetal, mas também é possível separar um derivado de outro, inclusive os isômeros *cis*- e *trans*-CP-47,497-C8 (um exemplo da classe ciclo-hexilfenol), JWH-015, JWH-018, JWH-081, JWH-073, JWH-122, JWH-200 JWH-210 (naftoindois), JWH-203, JWH-250, JWH-251, (fenilacetilindois), RCS-4 e *ortho*-RCS-4 (benzoilindois).

Uchiyama et al (2010), analisa e identifica diversos derivados canabinoides, tais como JWH-018, JWH-073 e CP-47,497.

Um dos métodos escolhidos para análise qualitativa e quantitativa é a cromatografia líquida de ultra eficiência UPLC-MS (do inglês *ultra-performance liquid chromatography*). No processo, a ionização ocorre por *electrospray* e o detector do espectrômetro de massas consiste em um quadrupolo simples.

O outro método utilizado pelos autores é a CG-MS no modo de impacto de elétrons a 70 V com injeção splitless.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O *Manual de Métodos Recomendados para Identificação e Análise de Agonistas Sintéticos dos Receptores Canabinoides em Materiais Apreendidos* elaborado pelo United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) traz um procedimento padrão para isolar e caracterizar novos canabinoides sintéticos.

A identificação de um material suspeito de conter canabinoides sintéticos é dificultada pela falta de substâncias e de espectros padrões aplicáveis a essa classe de drogas. Desse modo, o composto deve ser isolado de sua matriz vegetal, por meio de um solvente adequado, e deve ser submetido à cromatografia preparativa (tal como CCD ou CL preparativa) ou à cromatografia flash. A fração obtida através da extração deve conter apenas uma mancha na CCD e deve ser concentrada para análise posterior.

Técnicas como a espectrometria de massas e a ressonância magnética nuclear (RMN) são adequadas para a caracterização de substâncias novas. O Infravermelho e o MS/MS são úteis para identificar informações estruturais relevantes, tais como a diferenciação entre isômeros ou diastereoisômeros.

Com efeito, o perito possui papel fundamental no combate à entrada de novas drogas nos países. A apreensão, separação e identificação rápidas são tarefas indispensáveis para a contenção da disseminação dos canabinoides sintéticos.

Para que um material apreendido possa ser confiscado ou liberado rapidamente, cabe à polícia ter conhecimento de métodos de detecção e identificação das substâncias proscritas, além da competência para selecionar a melhor técnica frente ao tipo de amostra recolhida.

Pelas razões expostas, este trabalho tem o objetivo de apresentar e descrever algumas técnicas à disposição da polícia e demais órgão de investigação criminal em

operações de repressão ao tráfico de entorpecentes ilícitos, especificamente, a classe dos canabinoides sintéticos.

Tais métodos foram eleitos pela sua capacidade de detectar e quantificar derivados canabinoides sintéticos. Foram priorizados processos de resultados rápidos e capazes de avaliar, de forma eficiente, classes diferentes dos canabinoides sintéticos, além de diferenciar CS de estruturas semelhantes.

Com o objetivo de atender à necessidade de agilidade na detecção, identificação e quantificação de substâncias ilícitas dispersas em matrizes complexas, foram selecionadas técnicas com preparação elaborada e métodos nos quais a preparação da amostra é dispensável, de forma que o exemplar capturado possa ser analisado diretamente.

REFERÊNCIAS

AKAMATSU, S.; MITSUHASHI, T. MEKC–MS/MS method using a volatile surfactant for the simultaneous determination of 12 synthetic cannabinoids. **J. Sep. Sci.**, v. 37, p. 304-307, 2014. Disponível em: <www.jss-journal.com>.

ALVES, A. de O.; SPANIOL, B.; LINDEN, R. Canabinoides sintéticos: drogas de abuso emergentes: Synthetic cannabinoids: emerging drugs of abuse. **Rev. Psiq. Clín.**, v. 39, nº 4, p. 142-8, 2012.

CASTRO, A. de; PIÑEIRO, B.; LENDOIRO, E.; CRUZ, A.; LÓPEZ-RIVADULLA, M. Quantification of selected synthetic cannabinoids and Δ^9 -tetrahydrocannabinol in oral fluid by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1295, p. 99-106, 2013. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/chroma>.

DUNHAM, S. J. B.; HOOKER, P. D.; HYDE, R. M. Identification, extraction and quantification of the synthetic cannabinoid JWH-018 from commercially available herbal marijuana alternatives. **Forensic Science International**, v. 223, p. 241-244, 2012. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/forsciint>.

ELSOHLY, M. A.; GUL, W.; WANAS, A. S.; RADWAN, M. M. Synthetic cannabinoids: Analysis and metabolites. **Life Sciences**, v. 97, p. 78-90, 2014. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/lifescie>.

FREIJO JUNIOR, T. D.; HARRIS, S. E.; KALA, S. V. A Rapid Quantitative Method for the Analysis of Synthetic Cannabinoids by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 38, p. 466-478, 2014.

GOTTARDO, R.; CHIARINI, A.; DAL PRÀ, I.; SERI, C.; RIMONDO, C.; SERPELLONI, G.; ARMATO, U.; TAGLIARO, F. Direct screening of herbal blends for new synthetic cannabinoids by MALDI-TOF MS. **J. Mass. Spectrom.**, v. 47, p. 141-146, 2012. Disponível em: <wileyonlinelibrary.com>

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 8ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012. 920 p.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

IBÁÑEZ, M.; BIJLSMA, L.; VAN NUIJS, A. L.N.; SANCHO, J. V.; HARO, G.; COVACI, A.; HERNÁNDEZ, F. Quadrupole-time-of-flight mass spectrometry screening for synthetic cannabinoids in herbal blends. **J. Mass Spectrom.**, v. 48, p. 685-694, 2013. Disponível em: <wileyonlinelibrary.com>.

JOSHI, M.; CETRONI, B.; CAMACHO, A.; KRUEGER, C.; MIDEY, A. J. Analysis of synthetic cathinones and associated psychoactive substances by ion mobility spectrometry. **Forensic Science International**, v. 244, p. 196-206, 2014. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/forsciint>.

LOGAN, B. K.; REINHOLD, L. E.; XU, A.; DIAMOND, F. X. Identification of Synthetic Cannabinoids in Herbal Incense Blends in the United States. **J. Forensic. Sci., Paper Criminalistics**, v. 57, n. 5, September 2012.

MARGINEAN, I.; ROWE, W. F.; LURIE, I. S. The Role of Ultra High Performance Liquid Chromatography with Time of Flight Detection for the Identification of Synthetic Cannabinoids in Seized Drugs. **Forensic Science International**, v. 249, p. 83-91, Apr. 2015.

MEROLA, G.; ATURKIB, Z.; D'ORAZIOB, G.; GOTTARDO, R.; MACCHIA, T.; TAGLIARO, F.; FANALI, S. Analysis of synthetic cannabinoids in herbal blends by means of nano-liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 71, p. 45-53, 2012. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/jpba>

MOOSMANN, B.; KNEISEL, S.; GIRRESER, U.; BRECHT, V.; WESTPHAL, F.; AUWAÄRTER, V. Separation and structural characterization of the synthetic cannabinoids JWH-412 and 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3yl]-(4-methylnaphthalen-1-yl)methanone using GC-MS, NMR analysis and a flash chromatography system. **Forensic Science International**, v. 220, p. e17-e22, 2012. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/forsciint>.

MOOSMANN, B.; KNEISEL, S.; WOHLFARTH, A.; BRECHT, V.; AUWÄRTER, V. A fast and inexpensive procedure for the isolation of synthetic cannabinoids from 'Spice' products using a flash chromatography system. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 405, p. 3929-3935, 2013.

MUSAH, R. A.; DOMIN, M. A.; WALLING, M. A.; SHEPARD, J. R. E. Rapid identification of synthetic cannabinoids in herbal samples via direct analysis in real time mass spectrometry. **Mass. Spectrom.**, v. 26, p. 1109-1114, 2012.

RAJASEKARAN, M.; BRENTS, L. K.; FRANKS, L. N.; MORAN, J. H.; PRATHER, P. L. Human metabolites of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073 bind with high affinity and act as potent agonists at cannabinoid type-2 receptors *Toxicology and Applied Pharmacology*.

Toxicology and Applied Pharmacology, v. 269, p. 100-108, 2013. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/ytaap>.

SCHNEIDER, K. B.; HUETIS, M. A. Simultaneous quantification of 20 synthetic cannabinoids and 21 metabolites, and semi-quantification of 12 alkyl hydroxy metabolites in human urine by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1327, p. 105-117, 2014. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/chroma>.

SHANKS, K. G.; DAHN, T.; BEHONICK, G. S.; TERRELL, A. Analysis of First and Second Generation Legal Highs for Synthetic Cannabinoids and Synthetic Stimulants by Ultra-Performance Liquid Chromatography and Time of Flight Mass Spectrometry. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 36, p. 360-371, 2012.

SHANKS, K. G.; BEHONICK, G. S.; DAHN, T.; TERRELL, A. Identification of Novel Third-Generation Synthetic Cannabinoids in Products by Ultra-Performance Liquid Chromatography and Time-of-Flight Mass Spectrometry. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 37, p. 517-525, 2013.

SHEVYRIN, V.; MELKOZEROV, V.; NEVERO, A.; ELTSOV, O.; BARANOVSKY, A.; SHAFRAN, Y. Synthetic cannabinoids as designer drugs: New representatives of indol-3-carboxylates series and indazole-3-carboxylates as novel group of cannabinoids. Identification and analytical data. **Forensic Science International**, v. 244, p. 263-275, 2014a. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/forsciint>.

SHEVYRIN, V.; MELKOZEROV, V.; NEVERO, A.; ELTSOV, O.; SHAFRAN, Y. Analytical characterization of some synthetic cannabinoids, derivatives of indole-3-carboxylic acid. **Forensic Science International**, v. 232, p. 1-10, 2013. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/forsciint>.

SHEVYRIN, V.; MELKOZEROV, V.; NEVERO, A.; ELTSOV, O.; MORZHERIN, Y.; SHAFRAN, Y. 3-Naphthoylindazoles and 2-naphthoylbenzimidazoles as novel chemical groups of synthetic cannabinoids: Chemical structure elucidation, analytical characteristics and identification of the first representatives in smoke mixtures. **Forensic Science International**, v. 242, p. 72-80, 2014b.

STRANO-ROSSI, S.; ANZILLOTTI, L.; DRAGONI, S.; PELLEGRINO, R. M.; GORACCI, L.; PASCALI, V. L.; CRUCIANI, G. Metabolism of JWH-015, JWH-098, JWH-251, and JWH-307 in silico and in vitro: a pilot study for the detection of unknown synthetic cannabinoids metabolites. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 406, p. 3621-3636, 2014.

ZNALEZIONA, J.; GINTEROVÁ, P.; PETR, J.; ONDRA, P.; VÁLKA, I.; ŠEVČÍK, J.; CHRASTINA, J.; MAIER, V. Determination and identification of synthetic cannabinoids and their metabolites in different matrices by modern analytical techniques – a review. **Analytica Chimica Acta**, 2015. 15 p. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/aca>.

UCHIYAMA, N.; KIKURA-HANAJIRI, R.; OGATA, J.; GODA, Y. Chemical analysis of synthetic cannabinoids as designer drugs in herbal products. **Japan Forensic Science International**, v. 198, p. 31-38, 2010. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/forsciint>

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Leandro F. Machado pelas contribuições ao conteúdo deste trabalho.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.