



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
LABORATÓRIO DE TOXICOLOGIA -
LABTOX



ÁGATHA BEATRIZ MARIANO DE SOUZA

DETECÇÃO DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS EM FLUIDO ORAL POR
LC-MS/MS

BRASÍLIA – DF
2023



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
LABORATÓRIO DE TOXICOLOGIA -
LABTOX**



ÁGATHA BEATRIZ MARIANO DE SOUZA

**DETECÇÃO DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS EM FLUIDO ORAL POR
LC-MS/MS**

Trabalho de Conclusão de Curso em Química Tecnológica apresentado ao Instituto de Química da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química Tecnológica.

Orientador(a): Prof. Dra. Eloisa Dutra Caldas

Coorientador: MSc. Ettore Ferrari Junior

BRASÍLIA – DF

2023

Dedico este trabalho primeiramente a Deus e aos meus pais que me capacitaram, apoiaram e estiveram ao meu lado por toda minha jornada, sem estes nada seria possível.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de expressar minha profunda gratidão a Deus por me guiar em cada passo desta jornada e aos meus pais, cujo amor e apoio incondicional foi a minha força motriz. Vocês foram a luz, a motivação e a bússola que guiou e iluminou o meu caminho durante os momentos mais desafiadores.

Em segundo lugar, ao meu namorado Alessandro por ter estado ao meu lado pela maior parte do curso provendo carinho, conselhos, dividindo conhecimentos, estando comigo no laboratório incontáveis vezes, acompanhando em coletas exaustivas e me apoiando nos meus sonhos. Quero também agradecer aos meus amigos Sabrina, Laura, Lucas Dornelas, Giovanna, Calebe e a equipe LabTox, cujo apoio e companheirismo foram fundamentais durante a minha graduação. Vocês estiveram ao meu lado em cada etapa, compartilhando risos, lágrimas e tornaram esta jornada muito mais rica e significativa.

Em terceiro lugar, gostaria de agradecer à minha orientadora Prof. Eloisa por ter me dado a oportunidade de realizar pesquisas sob sua orientação e conseqüentemente tem fornecido condições para o meu desenvolvimento profissional, cuja orientação, foi valiosa para a realização deste trabalho. E um agradecimento especial ao meu coorientador Ettore, cuja orientação e tempo demandado foram cruciais para a conclusão deste projeto.

Expressar minha gratidão a Prof. Maria Lucilia, sua generosidade e empatia não apenas enriqueceram minha jornada acadêmica, mas também deixaram uma marca em meu desenvolvimento pessoal; obrigada por estar ao meu lado, por acreditar em mim e por me inspirar a ser melhor a cada dia. E por fim, ao Instituto de Química e à Universidade de Brasília. Esta instituição não apenas me proporcionou uma educação de qualidade, mas também o ambiente no qual pude crescer tanto profissional quanto pessoalmente. Estou orgulhosa de ser parte desta comunidade acadêmica e ansiosa para contribuir para a comunidade no futuro.

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre
aquilo que todos veem.”*

(Arthur Schopenhauer)

RESUMO

O uso de substâncias psicoativas é comum entre os jovens, principalmente no contexto de festas eletrônica, porém a maioria dos usuários não sabe exatamente o que está consumindo. Este estudo teve como objetivo a análise de 77 substâncias psicoativas em amostras de fluido oral utilizando o método QuEChERS acetato modificado e LC-MS/MS, previamente validado pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Toxicologia. As amostras foram coletadas entre frequentadores de festa de música eletrônica em Brasília, Distrito Federal, os quais também forneceram informações sobre o tipo e forma de droga consumida. O método utilizou 200 µL de matriz biológica, 400 µL de acetonitrila, 400 µL de água ultrapura e 200 mg de MgSO₄/NaOAc anidro (4:1) na etapa de extração, e 10 mg de amina primária secundária (PSA) e 30 mg de MgSO₄, na etapa de *clean up*. O extrato obtido (200 µL) foi seco sob vácuo, reconstituído em 100 µL de água:metanol 0,1% de ácido fórmico (1:1) e analisado por LC-MS/MS, apresentando limites de detecção variando de 0,04 a 0,5 ng/mL. O método foi aplicado na análise de 35 amostras reais, das quais 63 % apresentou pelo menos uma substância detectada. Nove amostras continham 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA) (entre <0,5 e 829 ng/mL) e/ou metilenodioxianfetamina (MDA) (entre 39,2 e 339,6 ng/mL). Metanfetamina (11 - 439 ng/mL) foi identificada em quatro amostras, juntamente com MDMA e MDA. Em uma amostra relatada como ingestão de “ecstasy” (MDMA), foi detectada a presença de eutilona, uma catinona sintética (4,7 ng/mL). Cinco amostras continham cocaína (entre 26,8 e 407,3 ng/mL) e seus metabólitos, benzoilecgonina (0,17 - 214,1 ng/mL) e ecgonina metil éster (7,4 - 150,1 ng/mL). A comparação entre as informações obtidas entre os usuários e os achados analíticos evidenciou que frequentadores de festa de música eletrônica são um grupo de alto risco, devido ao desconhecimento das substâncias que foram consumidas. Além do mais, a análise da saliva dos usuários provou ser importante ferramenta de monitoramento de drogas psicoativas utilizadas pela comunidade.

Palavras-chaves: Fluido oral, QuEChERS, Novas substâncias psicoativas, LC-MS/MS

ABSTRACT

The use of psychoactive substances is common among the younger population, mainly in the context of electronic parties, although most are not aware of which substance they are using. The objective of this study was to analyze 77 psychoactive substances in oral fluid samples, using the modified acetate QuEChERS procedure and LC-MS/MS, a method previously validated by the Laboratory of Toxicology. The samples were collected from users at an electronic music party in Brasilia, who also provided information about the type and form of drug consumed. The QuEChERS method used 200 μ L of biological matrix, 400 μ L of acetonitrile, 400 μ L of ultrapure water and 200 mg of anhydrous $MgSO_4/NaOAc$ (4:1) in the extraction step, and 10 mg of primary secondary amine (PSA) and 30 mg of $MgSO_4$ in the clean up step. The obtained extract (200 μ L) was dried under vacuum, reconstituted in 100 μ L of water:methanol 0.1% formic acid (1:1) and analyzed by LC-MS/MS, presenting limits of detection ranging from 0.04 to 0.5 ng/mL. The method was applied in the analysis of 35 real samples, of which 63% had at least one substance detected. Nine samples contained 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) (between <0.5 and 829 ng/mL) and/or methylenedioxyamphetamine (MDA) (between 39.2 and 339.6 ng/mL). Methamphetamine (11 - 439 ng/mL) was identified in four samples, along with MDMA and MDA. In a sample reported as ingestion of "ecstasy" (MDMA), the presence of eutylone, a synthetic catinone (4.7 ng/mL) was detected. Five samples contained cocaine (between 26.8 and 407.3 ng/mL) and its metabolites, benzoylecgonine (0.17 - 214.1 ng/mL) and ecgonine methyl ester (7.4 - 150.1 ng/mL). The comparison between the information obtained from the users and the analytical findings showed that electronic music party goers are a high-risk group, due to the lack of knowledge of the substances they consumed. Furthermore, the analysis of the users' saliva proved to be an important tool for monitoring psychoactive drugs used by the community.

Keywords: Oral Fluid, QuEChERS, New Psychoactive Substances, LC-MS/MS

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Número de NSP reportadas anualmente entre os anos de 2013 e 2023. Fonte: UNODC, 2023.....	1
Figura 2: Estrutura química da anfetamina (C ₉ H ₁₃ N) e da metanfetamina. Fonte: IVERSERN, 2008.....	4
Figura 3: Estrutura química do MDMA a) e do MDA b), respectivamente.....	5
Figura 4: Estruturas químicas de 4 canabinóides sintéticos diferentes.....	6
Figura 5: Estrutura química do Δ 9-tetrahidrocannabinol.....	6
Figura 6: Estrutura química da Catinona a) e Classe estrutural genérica de catinonas sintéticas (2-aminopropan-1-ona) b). Fonte: ANVISA, 2018.....	7
Figura 7: Substâncias que possuem a estrutura genérica de catinonas sintéticas.....	7
Figura 8: Estrutura genérica das feniletilaminas com predição de posição de possíveis substituintes com fins de modificação. Fonte: ANVISA, 2019.....	8
Figura 9: Exemplos de substâncias que possuem a estrutura genérica das feniletilaminas.	8
Figura 10: Estrutura química da piperazina.....	9
Figura 11: Estruturas químicas da anfetamina (a) e 2-aminoindano (2-AI) (b). A diferença estrutural entre a anfetamina (substância controlada internacionalmente) e o 2-AI é destacada em vermelho. Fonte: Adaptada UNODC, 2013a.....	9
Figura 12: Exemplos da estrutura da fenciclidina e cetamina, e substâncias do tipo aril-cicloalquilaminas similares a estas.....	10
Figura 13: Fórmula estrutural do fentanil.....	10
Figura 14: QuEChERS acetato modificado para análise de drogas em fluido oral.....	22
Figura 15: Cromatograma de fluido oral fortificado contendo os compostos analisados e os 9 padrões internos do método.....	23
Figura 16: Cromatograma da amostra 5: LSD (0,6 ng/mL); amostra 11: MDMA (26,1 ng/mL), MDA (128,9 ng/mL), metanfetamina (11,0 ng/mL) e 25B-NBOH (detectado).	26

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Fórmula molecular, transições MRM, tempo de retenção e seus respectivos potenciais de ionização , energia de colisão, potencial de saída da célula de colisão, limite de detecção e limite de quantificação dos 53 compostos analisados e dos 9 padrões intenos..... 16
- Tabela 2: Resultados de 35 amostras de fluido oral e os relatórios dos voluntários: forma de dosagem e substância psicoativa utilizada, e tempo decorrido entre o consumo e a coleta.24

SUMÁRIO

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS.....	3
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	3
3.1 Definição de novas substâncias psicoativas	3
3.1.1 A estrutura química das Novas Substâncias Psicoativas	4
3.1.2 Métodos analíticos usados na identificação e quantificação de NSP	10
3.1.3 Fluido oral.....	11
3.2 Conscientização sobre uso de drogas	11
3.2.1 Os riscos do uso de NSP	11
3.2.2 Sistemas de alerta rápido (SARs)	12
4. METODOLOGIA	13
4.1. Materiais de referência	13
4.1.1 Materiais	14
4.2 Equipamentos	15
4.2.2 LC-MS/MS	15
4.3 Coleta, armazenamento e tratamento das amostras	21
4.3.1 Tratamento das amostras.....	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6. CONCLUSÃO	28
7. REFERÊNCIAS	28

1. INTRODUÇÃO

Novas substâncias psicoativas (NSP) são moléculas que mimetizam os efeitos adversos de drogas já existentes no mercado (DEA, 2019), desenhadas, em sua maioria, para fins ilícitos e com o objetivo de burlar medidas de controle nacional e internacional aplicadas às substâncias. O termo foi designado para substâncias não controladas pelas convenções estabelecidas pelo Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (sigla em inglês, UNODC). Entre 2005 e 2009, o número de NSP informadas pela UNODC era de 166, chegando a mais de 1180 em 2022 (UNODC, 2022c; UNODC 2023a). A Figura 1 ilustra o número de NSP reportadas entre os anos de 2013 e 2023.



Figura 1: Número de NSP reportadas anualmente entre os anos de 2013 e 2023. Fonte: UNODC, 2023

O consumo dessas substâncias pode causar diversos problemas de saúde, tanto psicológicos quanto físicos, como: taquicardia, midríase (dilatação das pupilas), depressão, ansiedade, insônia, entre outros. Além disso, o uso de NSP pode levar a danos irreversíveis, podendo inclusive, levar o usuário a óbito. Casos de intoxicação e overdose normalmente são subnotificados, pois muitos usuários não buscam ajuda médica ou omitem aos profissionais de saúde sobre o consumo dessas substâncias, dificultando o correto diagnóstico e o tratamento adequado (OMS, 2004).

Além disso, a adição de diluentes e adulterantes nas drogas é uma prática comum no mercado ilegal, o que aumenta os riscos de episódios de intoxicação e overdose. Esses são usados para aumentar o volume, no caso de diluentes, e os adulterantes são adicionados para aumentar a potência das drogas simulando os efeitos de outras substâncias, tornando o produto diferenciado, único e conseqüentemente a uma dependência maior. No entanto, a utilização de desses proporciona efeitos desconhecidos e prejudiciais à saúde, tornando o uso de drogas

adulteradas ainda mais perigoso (OMS,2004). Como exemplo, têm-se o caso que ocorreu no Distrito Federal, um frequentador de festas de música eletrônica veio a óbito após o consumo de N-etilpentilona, uma catinona sintética (Ferrari e Caldas et al, 2021).

O fluido oral é uma matriz alternativa, pois é de fácil coleta, não invasiva e pode ser realizada no momento da abordagem, sem necessitar de local próprio. Recentes trabalhos demonstraram a possibilidade de monitoramento de drogas de abuso, incluindo NSP, por este fluido biológico (Krotulski et al., 2018).

O método QuEChERS, cujo acrônimo significa “Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe” (Rápido, Fácil, Econômico, Efetivo, Robusto e Seguro), originalmente desenvolvido para determinação de pesticidas em alimentos (Anastassiades et al., 2003), vem sendo empregado também na toxicologia (Ferrari e Caldas, 2018; Ferrari e Caldas, 2021). Existem três principais variações do método: o original, o QuEChERS acetato e o QuEChERS citrato. Todos eles consistem em extração dos analitos com acetonitrila, e partição com a adição de sais ($MgSO_4$ e/ou $NaCl$) com intuito da ocorrência do fenômeno “saltin-out”, no qual a solubilidade dos compostos diminui na presença de altas concentrações de sal. A limpeza do extrato é feita com os adsorventes PSA, C18 (octadecilsilano) e/ou carbono ativado. A principal diferença entre os três métodos está nos tipos de sais utilizados na etapa de partição, no QuEChERS acetato o cloreto de sódio é substituído pelo acetato de sódio e tem um efeito tamponante de 4.8 (Prestes et al.,2009). Neste trabalho o método usado foi o QuEChERS acetato adaptado.

O uso da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS) é frequente para a análise de substâncias presentes no fluido oral. Este método é valorizado por sua habilidade em atingir limites de detecção muito baixos, que são necessários para certas NSP, além de permitir a inclusão de diversas classes de substâncias em um único ciclo cromatográfico (Ferrari et al., 2022).

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa de Ciências da Saúde- Universidade de Brasília (CAAE 2936819.3.0000.0030).

2. OBJETIVOS

Objetivo geral:

Analisar amostras de fluido oral coletadas em festas de música eletrônica no Distrito Federal, a fim de detectar novas substâncias psicoativas e outras drogas, por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS).

Objetivo específico:

1. Analisar amostras de fluido oral coletadas em festa eletrônica quanto à presença de substâncias psicoativas;
2. Interpretar os resultados obtidos das análises laboratoriais junto a informações coletadas com os doadores voluntários;
3. Avaliar o fluido oral como matriz de escolha para monitoramento toxicológico de novas substâncias psicoativas entre usuários.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Definição de novas substâncias psicoativas

De acordo com o Relatório Mundial sobre Drogas de 2023 (UNODC, 2023a), NSP são “drogas com potencial de abuso, na forma pura ou em preparações (misturas), que não são controladas nos termos da Convenção Única sobre Entorpecentes de 1961 ou pela Convenção sobre Substâncias Psicotrópicas de 1971, mas que podem constituir uma ameaça à saúde pública” (UNODC, 2013a). A disponibilidade de NSP aumentou nos últimos anos, com 1180 informadas em 2022 e um total de 618 identificadas, incluindo 87 substâncias descobertas em 2013 (UNODC, 2022c; UNODC 2023a)

A detecção de NSP é um fenômeno mundial, na América Latina o uso de substâncias psicoativas como cetamina, catinonas, feniletilaminas e substâncias à base de plantas, como a Salvinorina, obtida de uma espécie de sálvia (*Salvia divinorum*), teve considerável crescimento ao longo dos anos. Os Estados Unidos tiveram o maior número de NSP reportadas, com 158 identificadas em 2022, mais do que o dobro do número de qualquer outro país (UNODC, 2023a).

O termo “novas substâncias” é erroneamente interpretado com o significado de síntese atual, entretanto muitas dessas substâncias foram sintetizadas há décadas, sendo utilizadas como uma novidade no mercado ilegal de drogas psicoativas. Logo o vocábulo não trata

necessariamente sobre inovação e sim sobre a disponibilidade no mercado ilícito e sobre o uso (ANVISA et al, 2018).

A maioria das drogas em questão são análogas ou miméticas às drogas clássicas como a metanfetamina, o MDMA (3,4-metilenodioximetanfetamina), ou o Δ 9-tetrahidrocannabinol o fitocanabinoide psicoativo presente na *Cannabis sativa* (SOUSSAN e KJELLGREN, 2016).

Sendo assim, as NSP se tornam um atrativo para os traficantes, devido, a baixa complexidade química de modificação estrutural, a facilidade de síntese e os potentes efeitos psicoativos. Por sua alta variabilidade, como número de compostos existentes, natureza química e composição, as NSP representam um enorme desafio para os sistemas de saúde e política de controle de drogas, sendo consideradas um crescente desafio mundial para os toxicologistas (GRIFFITHS et al., 2010; LUETHI e LIECHTI, 2020).

3.1.1 A estrutura química das substâncias psicoativas

As drogas recreativas são geralmente usadas em ambientes de lazer e entretenimento, como festas universitárias, acampamentos e shows, com objetivos diversos como relaxamento, aumento da energia e sensação de euforia. No entanto, o consumo dessas drogas pode levar a efeitos colaterais e riscos para a saúde. (HSM et al 2019)

Anfetaminas e as metanfetaminas são um grupo de compostos sintéticos que atuam como estimulantes do sistema nervoso central. Eles estão quimicamente relacionados com as aminas naturais, especificamente a feniletilamina, e são conhecidos por seus efeitos estimulantes e eufóricos. A estrutura química das anfetaminas, como a própria anfetamina, é baseada em uma estrutura de feniletilamina, com a adição de um grupo metil no carbono alfa, e a metanfetamina possui um grupo metil adicional..(IVERSERN,2008).

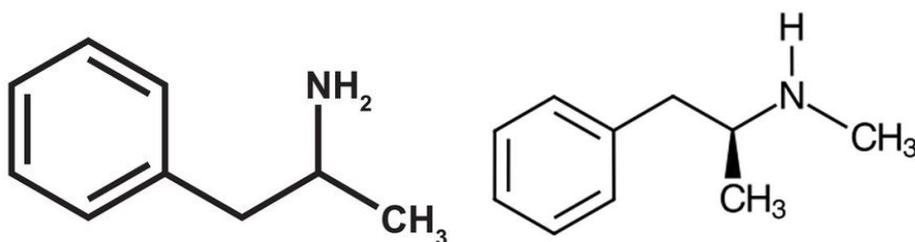


Figura 2: Estrutura química da anfetamina (à esquerda) (C₉H₁₃N) e da metanfetamina. Fonte: IVERSERN,2008

A anfetamina 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA) é caracterizada por um núcleo feniletilamínico, com dois grupos metoxi ligados aos carbonos do anel benzênico (Figura 3). Esta estrutura química específica é responsável pelas propriedades únicas da MDMA,

permitindo que ela atue simultaneamente como um estimulante e um psicodélico. Quimicamente, a metilenedioxianfetamina (MDA) é muito semelhante à MDMA, diferindo apenas pela ausência de um grupo metil ligado ao átomo de nitrogênio. Essa diferença estrutural resulta em propriedades farmacológicas diferentes, é conhecida por produzir efeitos mais estimulantes e psicodélicos do que a MDMA, incluindo alucinações, sinestesia e experiências espirituais. Além disso, a MDA tende a ter uma duração de ação mais longa do que a MDMA. Comumente disponibilizada em várias formas, incluindo comprimidos, pós e cápsulas de gel.(BAGGOTT et al, 2019)

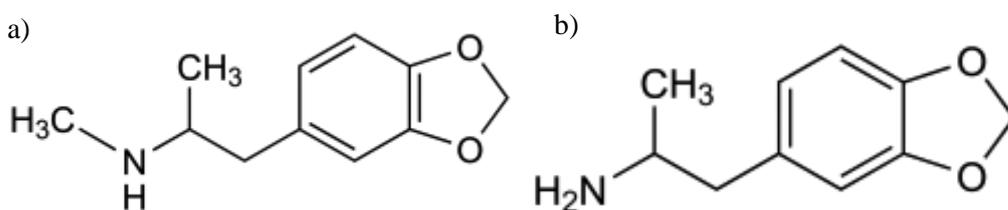


Figura 3: Estrutura química da a) MDMA e da b) MDA , respectivamente.

Segundo a UNODC (2018), as NSP podem ser classificadas em 8 grandes grupos: as triptaminas, canabinóides sintéticos, catinonas sintéticas, feniletilaminas, piperazinas, aminoindanos, substâncias do tipo fenciclidina e outras substâncias.

As triptaminas são do grupo indol-alkilamina, e predominantemente agem como alucinógenos, muitas vezes são sintetizadas como 5-MeO-DMT (naturalmente encontrada na natureza) e 5-metoxi- α -metil-triptamina (AMT), vendidas como alucinógenos mais conhecidos e consumidos fumados. A família das triptaminas inclui compostos de ocorrência natural como a serotonina, compostos com propriedades psicodélicas, como a dimetiltriptamina (DMT) e compostos sintéticos obtidos a partir de modificações na estrutura da triptamina (CUNHA, 2021).

Os canabinóides sintéticos, comercializados como Space, drogas “K” e/ou kronic (Figura 4), são moléculas que buscam efeitos similares aos do Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Figura 5) e consequentemente se ligam aos mesmos receptores neurais, tendo efeitos semelhantes e ainda mais intensos (Molnar et al., 2013), podem ser usados fumados ou misturados com outras substâncias pelos usuários.

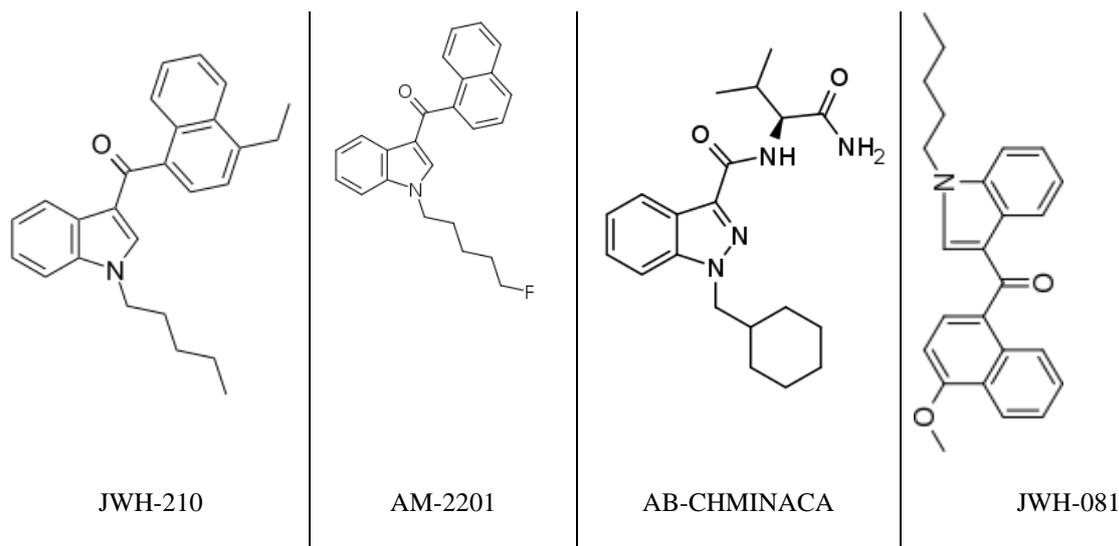


Figura 4: Estruturas químicas de 4 canabinóides sintéticos diferentes.

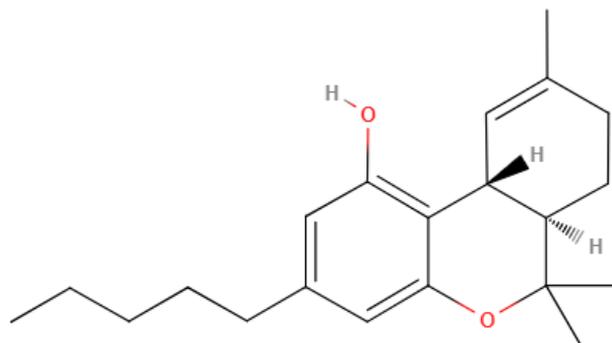


Figura 5: Estrutura química do Δ^9 -tetrahidrocannabinol

Catinonas sintéticas são quimicamente similares à metanfetamina e à anfetamina, sendo assim categorizadas como beta-ceto-feniletilaminas. São estruturalmente derivadas da catinona (Figura 6a), psico-estimulante do Sistema Nervoso Central (SNC) encontrada na *Catha edulis* (UNODC et al, 2018), planta de origem africana. A Portaria SVS/MS 344/98, por meio da Resolução de Direção Colegiada nº 581, de 2 de dezembro de 2021, instituiu o controle de catinonas sintéticas por meio de classe estrutural, e não apenas nominal (Figura 6b). Com este tipo de abordagem, foi possível classificar como substâncias proscritas em território nacional aproximadamente 120 catinonas sintéticas notificadas a EWA/UNODC, já que há predição de quais são os possíveis substituintes. A Figura 7 ilustra algumas das catinonas sintéticas monitoradas pelo método cromatográfico utilizado neste trabalho.

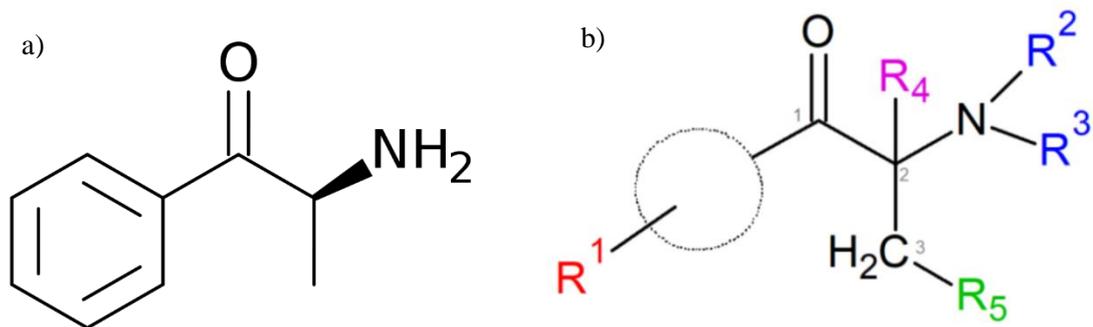


Figura 6: a) Estrutura química da catinona e b) Classe estrutural genérica de catinonas sintéticas (2-aminopropan-1-ona) b). Fonte: ANVISA, 2018.

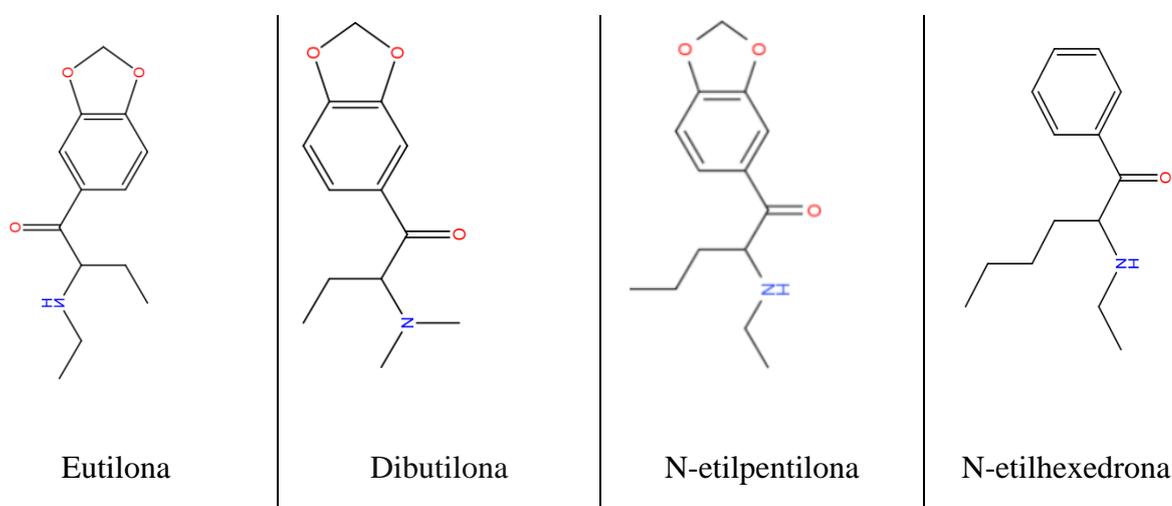


Figura 7: Substâncias que possuem a estrutura genérica de catinonas sintéticas

As feniletilaminas, em sua maioria, atuam como estimulantes e/ou alucinógenas no SNC. Sua ação estimulante é mediada pela dopamina, norepinefrina e/ou serotonina, assemelhando aos efeitos de drogas convencionais como a cocaína, anfetamina, metanfetamina e MDMA. Por outro lado, sua ação alucinógena é desencadeada pela mediação dos receptores de serotonina, simulando os efeitos de drogas convencionais como o LSD e o DMT (ANVISA, 2019)

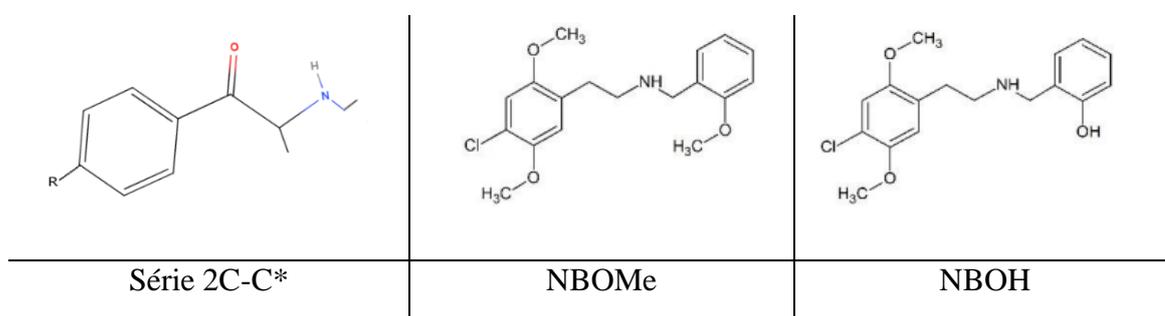
Essa classe de substâncias tem uma estrutura química caracterizada por um anel benzênico ligado a um grupo amino através de uma cadeia lateral de dois carbonos. A adição de substituintes nos radicais destacados na Figura 8, resulta em uma variedade de feniletilaminas substituídas. Essa substância pode exibir uma ampla gama de efeitos, dependendo de sua estrutura química específica.



Figura 8: Estrutura genérica das feniletilaminas com predição de posição de possíveis substituintes com fins de modificação. Fonte: ANVISA, 2019.

As principais NSP dessa classe são: moléculas com estrutura de feniletilamina substituídas no grupo fenil (exemplo a série 2-C no qual as moléculas se diferenciam apenas pelo possível substituinte Br, Cl ou F na mesma posição), derivados da série 2-C substituídos no grupo amino por metoxibenzil (NBOMe) ou hidroxibenzil (NBOH), anfetaminas substituídas no anel aromático (série D), benzodifuranos (como 2C-B-Fly) e outras substâncias (como PMMA) (ANVISA, 2019).

Por exemplo, as substâncias da série 2C-C são as: 4-bromometcatinona, 4-clorometcatinona e 4-fluorometcatinona são classificadas como NSP derivadas da metcatinona, uma substância sob controle internacional. As estruturas dessas NSP apresentam pequenas alterações em relação à molécula controlada se distinguindo apenas pela inclusão de halogênios (bromo, cloro e flúor) em uma estrutura principal (Figura 9).



*Sendo R os seguintes substituintes: Br, Cl ou F

Figura 9: Substâncias que possuem a estrutura genérica das feniletilaminas.

Inicialmente, as piperazinas foram sintetizadas com a finalidade terapêutica, mas não chegaram a ser implementadas; no mercado ilegal, são comercializadas como MDMA (êxtase)

em comprimidos, já que possuem efeitos semelhantes. É uma molécula cíclica que faz parte da família das etilenodiaminas, caracterizada por um anel heterocíclico de seis membros, com átomos de nitrogênio ocupando as posições 1 e 4 (Figura 10).

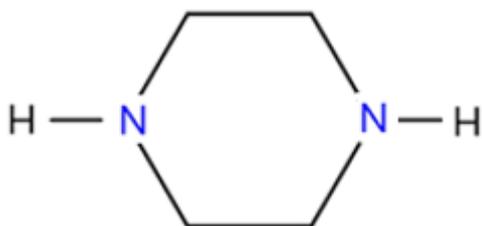


Figura 10: Estrutura química da piperazina.

Os aminoindanos são conhecidos por seus efeitos, reações emocionais e sociais similares ao MDMA. O 2-aminoindano (2-AI), um análogo cíclico da anfetamina, serve como uma estrutura molecular base que pode ser modificada para gerar diversas substâncias dessa classe (Figura 11). Essas substâncias são frequentemente encontradas em diferentes formas, como comprimidos, pó ou cristais.

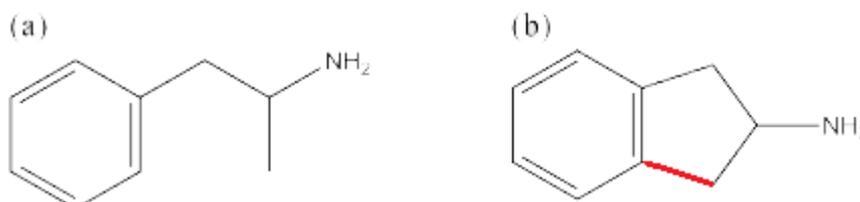


Figura 11: Estruturas químicas da anfetamina (a) e 2-aminoindano (2-AI) (b). A diferença estrutural entre a anfetamina (substância controlada internacionalmente) e o 2-AI é destacada em vermelho. Fonte: Adaptada UNODC, 2013a.

As substâncias que se assemelham à fenciclidina (PCP) e a cetamina são conhecidas como aril-ciclo-alquilaminas (Figura 12). A cetamina é um analgésico de uso veterinário, porém o uso recreativo da cetamina é um problema antigo que remonta à década de 1980 e está relacionado a uma série de graves efeitos adversos à saúde (UNODC, 2017). Derivados de fenciclidina atuam principalmente como estimulantes do sistema nervoso central (SNC) (ANVISA, 2019a) e são utilizados comumente como pó inalado mas também podem ser diluídas e injetadas. Assim como as catinonas sintéticas, as feniletilaminas e os canabinóides

sintéticos também são regulados pela estrutura geral e possíveis substituintes, segundo a Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998.

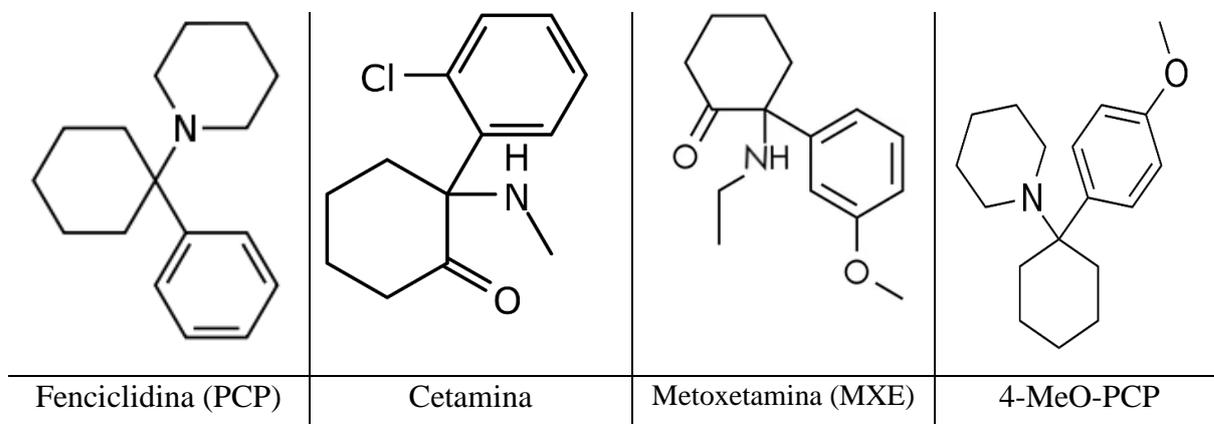


Figura 12: Estrutura da fenciclidina e cetamina, e substâncias do tipo aril-ciclo-alquilaminas similares a estas.

NSP derivadas de medicamentos prescritos, como análogos de fentanil e derivados de benzodiazepínicos (Figura 13) vem apresentando um aumento importante no número de detecções e apreensões, especialmente a partir de 2014. (ANVISA, 2017).

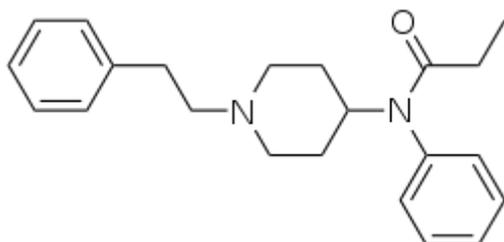


Figura 13: Fórmula estrutural do fentanil.

3.1.2 Métodos analíticos usados na identificação e quantificação de NSP

A detecção e identificação de NSP é uma tarefa analítica complexa, devido ao constante surgimento de compostos com novas estruturas químicas no mercado ilícito. A técnica LC-MS/MS é frequentemente empregada para a análise desses compostos, devido à sua capacidade de detectar e identificar múltiplos analitos em uma única corrida (BRUNI, et al., 2021).

No entanto, a aplicação dessa técnica apresenta desafios significativos, sendo um dos principais o desenvolvimento de métodos que possam identificar corretamente essas substâncias, especialmente à medida que novas estruturas são introduzidas no mercado ilícito. Concomitantemente, a análise de NSP em amostras biológicas é mais desafiadora do que a análise de drogas apreendidas, devido às baixas concentrações encontradas em matrizes

biológicas e ao metabolismo envolvido, muitas vezes ainda desconhecido (Wagman et al., 2018).

3.1.3 Fluido oral

O fluido oral possui uma consistência viscosa e uma aparência transparente. Este é resultado da combinação de dois componentes principais: a saliva e o transudato da mucosa bucal. A saliva é produzida por três glândulas principais, as glândulas parótida, sublingual e submandibular. Em contrapartida, o transudato da mucosa bucal é originado a partir dos tecidos gengivais e dos capilares presentes na mucosa bucal. Portanto, este é uma mistura complexa desses dois componentes, cada um com sua origem e função específica no organismo (HUMPHREY e WILLIAMSON, 2001; DeLIMA e VAN DYKE, 2003).

A saliva humana é composta principalmente por água (99,4%), e contém também enzimas, polímeros e proteínas: ptialina, mucina, albumina; respectivamente. Pode ser utilizada para o diagnóstico laboratorial de forma não invasiva sendo uma alternativa útil para determinar presença de entorpecentes, seja intacto logo após o uso ou metabolizado. Apesar de ser uma alternativa acessível e barata, uma das suas desvantagens para detecção de drogas podem incluir a possibilidade de contaminação da amostra e degradação das moléculas pela flora bacteriana.(CURRY, J.A. et al,2017)

A coleta de saliva para testes é uma prática cada vez mais comum, e impulsiona o desenvolvimento de kits de coleta de saliva no mercado, alguns desses kits incluem o Quantisal, OraleZE, entre outros. Entretanto, há formas mais econômicas de realizar a coleta, porém passíveis de erro, como a elaboração de kits *in-house*. (OLIVEIRA et al,2021)

A coleta de saliva não estimulada tem a vantagem de não diluir possíveis analitos presentes na matriz biológica, o que pode aumentar as chances de detecção das substâncias de interesse. No entanto, a desvantagem é a falta de conservantes que pode prejudicar o mantimento da estabilidade e conservação das amostras (CURRY et al, 2017).

3.2 Conscientização sobre uso de drogas

3.2.1 Os riscos do uso de NSP

A diversificação do mercado de substâncias ilícitas está em andamento, com o surgimento contínuo de novas substâncias psicoativas. Além disso, estão sendo cada vez mais observadas o uso de drogas associadas, com o conhecimento ou não (KROTULSKI et al., 2018). Embora algumas dessas misturas sejam bem conhecidas e tenham grande apelo em uma cultura local

(como nyaope na África do Sul), outras são relativamente novas e ainda desconhecidas, como o "tuci", mistura ainda desconhecida, que parece estar se espalhando rapidamente na América do Sul e atingido os mercados de entorpecentes da América do Norte e Europa nos últimos anos. Da mesma forma, "água feliz" e "leite em pó k" são novas misturas que apareceram recentemente no leste e sudeste da Ásia (UNODC, 2023a)

Analogamente, a substância consumida é por vezes desconhecida, levando a efeitos imprevisíveis, sendo usual que embalagens ou apresentações comerciais idênticas incluem substâncias diferentes ou que as NSP sejam vendidas sob nome ou apelidos de drogas comumente conhecidas, das quais imitam os efeitos. O desconhecimento do usuário pode, muitas vezes, levá-lo a quadros de intoxicação aguda, e a morte. (UNODC, 2023a)

3.2.2 Sistemas de alerta rápido (SARs)

Implementado em caráter experimental no Brasil, o Sistema de Alerta Rápido (SARs) é coordenado pela Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas e Gestão de Ativos do Ministério da Justiça e Segurança Pública (SENAD/MJSP). O principal objetivo do SARs é coletar e produzir dados sobre o surgimento de novas substâncias psicoativas no país, permitindo que as autoridades possam agir de forma mais rápida e eficaz para prevenir danos à saúde pública (UNODC et al., 2022).

É uma ferramenta essencial para identificar e responder a novas ameaças envolvendo substâncias psicoativas, dentre elas as NSP. Estes sistemas funcionam como um instrumento de vigilância que agrega dados epidemiológicos das áreas de saúde e segurança pública, além de informações sobre novas substâncias psicoativas e outros fenômenos emergentes sobre drogas (CDESC *et al.*, 2023).

Segundo a “Resolução n. 6, de 3 de agosto de 2021”, do Conselho Nacional de Políticas sobre Drogas (CONAD), o SARs opera em 4 etapas: a detecção, caracterização, análise de risco e produção do alerta. A detecção é a primeira etapa crucial no processo de monitoramento de novas substâncias, ele envolve a descoberta e identificação de novas substâncias e/ou de novos padrões de oferta e demanda de drogas. Esta etapa é fundamental para se manter um banco de dados atualizado sobre as últimas tendências do mercado ilícito. (MJSP, 2021)

A etapa de caracterização envolve o detalhamento da droga sob diferentes aspectos, isso inclui formas de apresentação, composição química, efeitos toxicológicos, riscos para a saúde e situação jurídica, dentre outros. Se o fenômeno envolver a identificação de novos padrões de demanda e oferta de drogas, o detalhamento abordará o escopo temporal, a área geográfica,

quantidades apreendidas, dentre outros fatores. Nessa etapa que se entende completamente a natureza e o impacto potencial da droga ou tendência emergente.

A análise de riscos é uma etapa crítica que envolve a avaliação de todos os dados e informações disponíveis por um grupo multidisciplinar de especialistas. O objetivo é avaliar os riscos e a relevância para que se possa gerar um alerta de informações, e desta forma um documento que reunirá esses dados e informações e começará a circular entre as autoridades de saúde e de controle e interdição.

E por fim, se o risco for avaliado como relevante, a etapa de geração de alerta ocorre e envolve a emissão de um aviso/advertência, que contém informações de interesse público sobre a emergência de uma nova substância psicoativa ou sobre um novo padrão de oferta e/ou demanda de droga. Esta envolve a produção de um documento de síntese, que constitui o próprio alerta, e resume a informação específica sobre drogas voltada para a comunidade e aos usuários de drogas. Esta etapa final garante que a informação chegue a quem for necessário, como emergências hospitalares e autoridades de segurança pública, permitindo uma resposta informada e eficaz.

Este trabalho está ativamente envolvido nessa fase inicial, contribuindo para a descoberta e identificação de novas substâncias e/ou de novos padrões de oferta e demanda de drogas. Ao realizar isto está ajudando a manter um banco de dados atualizado sobre as últimas tendências do mercado ilícito, desempenhando um papel vital na mitigação dos riscos associados ao uso de substâncias desconhecida

4. METODOLOGIA

4.1. Materiais de referência

Padrões de drogas de abuso e metabólitos incluídos no método são: benzoilecgonina (BZE), DMT (dimetiltriptamina), éster metílico de ecgonina (EME), fentanil, harmina, harmalina, LSD, levamisol, MDA (metilenodioxo-anfetamina) e soluções padrão de cocaína-d3, diazepam-d5, fentanil-d5, imipramina-d3, LSD-d3, MDA-d5, MDMA-d5, THC-COOH-d3 (padrões internos, IS) foram adquiridos da Cerilliant - Sigma Aldrich (EUA). 25E-NBOMe, 4-cloro-alfa-PPP (4-Cl- α -PPP; 4-cloro-alfa-pirrolidinopropiofenona), 5F-AKB-48 (5-fluoro APINACA), etilona (bk-MDEA) e eutilona (bk-EBDB) foram adquiridos da Cayman Chemical (EUA). Clobenzorex foi adquirido da LGC Standards. 2,5-DMA, 2C-B, 5-MAPB, 6-MAM (6-monoacetil morfina), 7-aminoflunitrazepam (7-AF), Δ -9-tetrahidrocannabinol (THC), AH-7921, AM 2201, anfetamina, benzilpiperazina (BZP), cocaína, JWH-018, cetamina, m-CPP

(meta-clorofenilpiperazina), MDEA (metilenodioxo-N-etilamfetamina), 3,4-MDMA (3,4-metilenodioximetamfetamina), MDPV (metilenodioxipirovalerona), mefedrona, metadona, metamfetamina, metilona (bk-MDMA) e norketamina, e THC-COOH (11-nor-9-carboxi-THC) foram doados pelo Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC). 2C-H, 2C-I, 5-MeO-MIPT, AB-CHMINACA, AKB-48, α -PVT (α -pirrolidinopentiotiofenona), dibutilona (bk-DMBDB), JWH-081, JWH-210, fenmetrazina e TH-PVP (tetrametileno- α -Pirrolidinovalerofenona), foram fornecidos pela Administração de Repressão às Drogas dos Estados Unidos (DEA). Flunitrazepam foi doado pelo INMETRO (Brasil); Anfepramona (dietilpropiona) pela Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A; metilfenidato pela Novartis Pharma (Brasil). Tetrahydroharmina foi sintetizada e sua identidade e pureza confirmadas por espectrometria de massa e ressonância magnética nuclear. O padrão de N-etilpentilona (etilona) foi preparado a partir de material apreendido. 25B-NBOH, 25C-NBOH, 25E-NBOH, 25I-NBOH, 25B-NBOMe, 25C-NBOMe, 25H-NBOMe, 25I-NBOMe, 2C-C, 2C-E, 4-metilpentedrona, 5F-MDMB-PICA, α -PVP (α -pirrolidinopentiofenona), AB-FUBINACA, ADB-BUTINACA, canabinol, etizolam, femproporex, JWH-250, MDPT (metilenodioxo-N-tert-butilcatinona), MPHP (metil- α -pirrolidinohexanofenona), N-etilhexedrona e pentilona foram otimizados apenas para análise qualitativa por falta de bom desempenho para transições quantitativas.

Portanto o método englobou principalmente substâncias dos grupos feniletilaminas, anfetaminas, catinonas sintéticas, canabinóides sintéticos e opioides.

4.1.1 Materiais

- Adsorvente PSA (amina primária e secundária), (Sigma Aldrich, EUA);
- Sulfato de magnésio anidro p.a. ($MgSO_4$) (Sigma Aldrich, EUA);
- Acetato de sódio (NaOAc) (Sigma Aldrich, EUA);
- Acetonitrila (ACN) grau LC-MS (Scharlau, Espanha);
- Ácido fórmico CH_2O_2 (Honeywell/Fluka, Alemanha);
- Metanol grau LC-MS;
- Tubos de polipropileno, com tampas de rosca de capacidade de 50 e 15 mL (Analítica, Brasil);
- Microtubo, tipo Eppendorf com 2 mL de capacidade;
- Frascos de vidro (vial) com capacidade de 2 mL (Agilent, EUA);
- Vidraria comum utilizada em laboratório;

- Pipeta Pasteur.

4.2 Equipamentos

4.2.1. Gerais

- Balança analítica, modelo Shimadzu MV-6; Balança semi-analítica, modelo Bel Mark 210 A;
- Balança eletrônica, modelo Marte MV-6;
- Pipetador automático de 20 µL, 100 µL, 200 µL, 1000 µL e 5000 µL da Gilson;
- Centrífuga, Hettich modelo Rotina 380 P;
- CentriVap Concentrator e CentriVap Cold Trap ambos da Labconco;
- Agitador do tipo vórtex;

4.2.2 LC-MS/MS

O método foi previamente validado, satisfatoriamente pelo grupo de pesquisa LabTox no ano de 2023. O sistema LC Shimadzu, que inclui bombas LC-20AD, um amostrador automático SIL-20AD e forno de coluna CTO-20AC (Kyoto, Japão), foi utilizado em conjunto com um espectrômetro de massa de triplo quadrupolo 6500+ SCIEX QTRAP® (Foster, EUA) para realizar as análises. O controle e aquisição de dados foram feitos através do software Analyst® (versão 1.6), enquanto o processamento dos resultados foi realizado pelo SCIEX OS®. Para a separação cromatográfica, foi utilizada uma coluna Zorbax Eclipse Plus C18 (2,1 mm ID × 100 mm, 1,8 µm, Agilent Technologies). A eluição em gradiente foi executada com uma taxa de fluxo constante de 0,3 mL/min e uma temperatura do forno de coluna de 40 °C, seguindo o gradiente: 0 min: 5% ; 1,4 min: 30% ; 11-12,6 min: 95% ; 12,61-14,4 min: 5% . O tempo total de execução foi de 14,4 min. O volume de injeção foi ajustado para 3 µL. A ionização por eletrospray (ESI) foi realizada no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM) com MRM programado e ionização positiva. As condições de otimização da fonte de íons foram: gás de cortina (45 psi), spray de íons (5500 V), temperatura da fonte (550 °C), gás 1 e gás 2 (55 psi).

Soluções estoque individuais a 1 mg/mL foram preparadas em metanol ou acetonitrila, além disso foram preparadas duas soluções estoque de THC-COOH uma com concentração final de 10 µg/mL e a outra com a 100 µg/mL, para uso em diluições, solução de trabalho e construção da curva analítica. Uma solução de trabalho mista foi elaborada com 25E-NBOMe,

AB-CHMINACA, AB-FUBINACA AH-7921, AKB-48, BZE, EME, fentanil, JWH-018, JWH-081, JWH-210 e LSD, a 0,4 µg/mL, e THC-COOH a 4 µg/mL, com as demais substâncias a 2 µg/mL. Posteriormente, essa solução de trabalho foi diluída dez vezes para otimização e validação dos parâmetros. Para os padrões internos, foram preparadas duas soluções de trabalho mistas, uma a 1 µg/mL e a outra a 25 ng/mL. Todas essas soluções foram armazenadas em frascos âmbar a uma temperatura de -20°C

Para cada analito, foram selecionadas duas transições, uma de quantificação e uma de qualificação. A fórmula molecular, tempo de retenção (RT), padrão interno respectivo, transições MRM, DP, energia de colisão e CXP, limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação para os 53 analitos e os 9 padrões internos utilizados no método são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Fórmula molecular, transições MRM, tempo de retenção e seus respectivos potenciais de ionização, energia de colisão, potencial de saída da célula de colisão, limite de detecção e limite de quantificação dos 53 compostos analisados e dos 9 padrões internos.

Substância	Fórmula molecular	Padrões internos	Transições (m/z)		RT (min.)	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	
2,5-DMA	C ₁₁ H ₁₇ NO ₂	Cocaina-d3	196,0	→	151,2	3,7	46	23	0,2	0,5	
			196,0	→	164,1	3,7	46	27			16
25E-NBOMe	C ₂₀ H ₂₇ NO ₃	Diazepam-d5	330,1	→	121,1	7,1	41	25	0,04	0,1	
			330,1	→	91,0	7,1	41	61			14
2C-B	C ₁₀ H ₁₄ BrNO ₂	Fentanil-d5	308,0	→	275,9	4,9	41	33	0,2	0,5	
			308,0	→	260,7	4,9	41	45			30
2C-H	C ₁₀ H ₁₅ NO ₂	MDMA-d5	182,1	→	150,1	3,3	36	25	0,2	0,5	
			182,1	→	135,0	3,3	36	37			14
2C-I	C ₁₀ H ₁₄ INO ₂	Diazepam-d5	261,0	→	91,0	5,6	46	27	0,2	0,5	
			261,0	→	92,1	5,6	46	29			10
4-Cl-α-PPP	C ₁₃ H ₁₆ ClNO	Cocaina-d3	239,0	→	127,2	3,5	51	29	0,5	1,5	
			239,0	→	126,2	3,5	51	29			14
5F-AKB-48	C ₂₃ H ₃₀ FN ₃ O	THC-COOH-d3	284,2	→	135,9	11,6	111	31	12	0,2	0,5

Substância	Fórmula molecular	Padrões internos	Transições (m/z)			RT (min.)	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
				→							
			284,2	→	92,9	11,6	111	67	15		
5-MAPB	C ₁₂ H ₁₅ NO	Diazepam-d5	190,1	→	160,1	2,7	36	25	18	0,2	0,5
			190,1	→	132,1	2,7	36	35	6		
5-MeO-MIPT	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O	Cocainad3	247,1	→	86,1	3,3	31	19	12	0,2	0,5
			247,1	→	174,2	3,3	31	23	12		
6-MAM	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	Diazepam-d5	328,2	→	165,2	2,8	114	53	15	0,2	0,5
			328,2	→	211,2	2,8	114	36	15		
7-AF	C ₁₆ H ₁₄ FN ₃ O	Diazepam-d5	284,1	→	135,1	4,5	91	39	15	0,2	0,5
			284,1	→	226,0	4,5	91	49	15		
AB-CHMINACA	C ₂₀ H ₂₈ N ₄ O ₂	Diazepam-d5	357,2	→	312,0	10,2	86	23	18	0,04	0,1
			357,2	→	241,0	10,2	86	35	20		
AH-7921	C ₁₆ H ₂₂ Cl ₂ N ₂ O	MDA-d5	329,9	→	285,0	5,8	46	25	26	0,04	0,1
			329,9	→	173,0	5,8	46	39	16		
AKB-48	C ₂₃ H ₃₁ N ₃ O	THC-COOH-d3	366,2	→	135,2	12,5	41	23	14	0,04	0,1
			366,2	→	92,9	12,5	41	61	10		
α-PVT	C ₁₃ H ₁₉ NOS	Cocaina-d3	238,1	→	126,1	3,5	56	29	14	0,5	1,5
			238,1	→	97,0	3,5	56	31	12		
AM-2201	C ₂₄ H ₂₂ FNO	Diazepam-d5	360,0	→	155,1	10,2	101	37	28	0,2	0,5
			360,0	→	127,0	10,2	101	71	22		
Amfepramona	C ₁₃ H ₁₉ NO	MDA-d5	206,1	→	105,1	3,0	56	29	12	0,2	0,5
			206,1	→	133,1	3,0	56	23	8		
Amfetamina	C ₉ H ₁₃ N	MDMA-d5	136,1	→	91,0	2,9	68	24	15	0,5	1,5
			136,1	→	65,0	2,9	68	50	15		
			136,1	→	119,1	2,9	68	20	15		

Substância	Fórmula molecular	Padrões internos	Transições (m/z)			RT (min.)	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
				→							
BZE	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	Diazepam-d5	290,1	→	168,2	3,9	80	25	15	0,04	0,1
			290,1	→	105,1	3,9	80	39	15		
BZP	C ₁₁ H ₁₆ N ₂	MDA-d5	178,0	→	91,1	2,8	71	27	8	0,2	0,5
			178,0	→	65,0	2,8	71	65	16		
Clobenzorex	C ₁₆ H ₁₈ ClN	Cocaina-d3	260,2	→	125,0	5,6	80	20	15	0,2	0,5
			260,2	→	91,1	5,6	80	25	15		
Cocaina	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	Cocaina-d3	304,2	→	182,2	3,9	86	25	15	0,2	0,5
			304,2	→	105,1	3,9	86	41	15		
Dibutilona	C ₁₃ H ₁₇ NO ₃	MDA-d5	236,1	→	191,1	3,3	56	21	10	0,2	0,5
			236,1	→	161,0	3,3	56	27	18		
			236,1	→	86,1	3,3	56	27	10		
DMT	C ₁₂ H ₁₆ N ₂	Diazepam-d5	189,1	→	144,1	2,8	41	25	10	0,2	0,5
			189,1	→	143,0	2,8	41	45	8		
EME	C ₁₀ H ₁₇ NO ₃	MDMA-d5	200,1	→	182,2	0,8	130	20	10	0,04	0,1
			200,1	→	82,0	0,8	130	35	10		
Etilona	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	Diazepam-d5	222,1	→	174,1	2,9	36	25	20	0,2	0,5
			222,1	→	146,1	2,9	36	37	6		
Eutilona	C ₁₃ H ₁₇ NO ₃	Diazepam-d5	236,1	→	188,1	3,4	31	25	10	0,2	0,5
			236,1	→	174,0	3,4	31	43	20		
Fentanil	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O	Fentanil-d5	338,1	→	189,1	5,0	101	35	54	0,04	0,1
			338,1	→	188,1	5,0	101	35	46		
Flunitrazepam	C ₁₆ H ₁₂ FN ₃ O ₃	Nortriptilina-d3	314,1	→	268,1	7,0	150	35	15	0,2	0,5
			314,1	→	239,2	7,0	150	49	15		
Harmalina	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O	Cocaina-d3	215,0	→	200,1	4,1	71	33	14	0,2	0,5

Substância	Fórmula molecular	Padrões internos	Transições (m/z)			RT (min.)	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
				→							
			215,0	→	174,1	4,1	71	33	14		
Harmina	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O	Cocaina-d3	213,1	→	170,1	4,3	86	43	12	0,2	0,5
			213,1	→	168,0	4,3	86	33	16		
JWH-018	C ₂₄ H ₂₃ NO	THC-COOH-d3	342,1	→	127,2	11,3	101	35	26	0,04	0,1
			342,1	→	155,0	11,3	101	63	55		
JWH-081	C ₂₅ H ₂₅ NO ₂	Diazepam-d5	372,1	→	185,1	11,5	40	33	16	0,1	0,3
			372,1	→	157,2	11,5	40	51	10		
JWH-210	C ₂₆ H ₂₇ NO	Diazepam-d5	370,1	→	183,1	11,9	60	33	18	0,04	0,1
			370,1	→	214,1	11,9	60	33	18		
Cetamina	C ₁₃ H ₁₆ ClNO	LSD-d3	238,1	→	125,0	3,6	75	46	15	0,2	0,5
			238,1	→	220,2	3,6	75	20	15		
Levamisol	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ S	Diazepam-d5	205,7	→	179,0	2,6	1	29	20	0,2	0,5
			205,7	→	92,1	2,6	1	47	10		
LSD	C ₂₀ H ₂₅ N ₃ O	LSD-d3	324,0	→	223,1	4,6	81	33	18	0,04	0,1
			324,0	→	281,2	4,6	81	25	16		
m-CPP	C ₁₀ H ₁₃ ClN ₂	Cocaina-d3	198,0	→	170,0	4,3	181	27	18	0,2	0,5
			198,0	→	169,1	4,3	181	41	18		
MDA	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	MDA-d5	180,1	→	163,1	3,0	128	20	15	0,5	1,5
			180,1	→	105,1	3,0	128	30	15		
			180,1	→	77,0	3,0	128	50	15	-	-
MDEA	C ₁₂ H ₁₇ NO ₂	MDA-d5	208,1	→	163,2	3,3	116	17	15	0,2	0,5
			208,1	→	135,1	3,3	116	30	15		
MDMA	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	MDMA-d5	194,1	→	163,1	3,0	122	17	15	0,2	0,5
			194,1	→	105,1	3,0	122	34	15		

Substância	Fórmula molecular	Padrões internos	Transições (m/z)			RT (min.)	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
				→							
MDPV	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	MDMA-d5	276,1	→	126,1	4,1	51	33	14	0,2	0,5
			276,1	→	205,1	4,1	51	25	12		
Mefedrona	C ₁₁ H ₁₅ NO	MDMA-d5	178,2	→	160,2	3,3	51	19	26	0,2	0,5
			178,2	→	145,1	3,3	51	27	24		
MA	C ₁₀ H ₁₅ N	MDMA-d5	150,1	→	91,0	2,9	80	27	15	0,2	0,5
			150,1	→	119,1	2,9	80	15	15		
Metilona	C ₁₁ H ₁₃ NO ₃	MDMA-d5	208,1	→	160,1	2,7	60	25	12	0,2	0,5
			208,1	→	132,1	2,7	60	32	14		
Metilfenidato	C ₁₄ H ₁₉ NO ₂	Cocaina-d3	234,1	→	84,1	3,9	70	55	15	0,2	0,5
			234,1	→	91,1	3,9	70	30	15		
N-etilpentilona	C ₁₄ H ₁₉ NO ₃	Cocaina-d3	240,3	→	232,1	4,1	66	19	18	0,2	0,5
			250,3	→	202,0	4,1	66	25	10		
Norcetamina	C ₁₂ H ₁₄ ClNO	MDMA-d5	224,1	→	125,1	3,5	55	18	12	0,2	0,5
			224,1	→	207,1	3,5	55	32	15		
femetrazina	C ₁₁ H ₁₅ NO	Diazepam-d5	178,1	→	145,0	3,2	46	27	10	0,5	1,5
			178,1	→	144,1	3,2	46	39	16		
THC	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	Diazepam-d5	315,2	→	259,2	11,1	100	36	15	0,2	0,5
			315,2	→	193,2	11,1	100	27	15		
THC-COOH	C ₂₁ H ₂₈ O ₄	THC-COOH-d3	345,2	→	327,2	11,0	80	20	15	0,4	1,0
			345,2	→	299,2	11,0	80	20	15		
THH	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O	LSD-d3	217,0	→	188,1	3,4	46	19	14	0,2	0,5
			217,0	→	200,1	3,4	46	17	16		
TH-PVP	C ₁₉ H ₂₇ NO	MDA-d5	286,2	→	145,1	6,7	41	35	16	0,2	0,5
			286,2	→	215,1	6,7	41	27	26		

Substância	Fórmula molecular	Padrões internos	Transições (m/z)			RT (min.)	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
				→							
LSD-d3 ¹	C ₂₀ H ₂₂ N ₃ OD ₃	-	327,0	→	226,0	4,4	81	33	10	-	-
Cocaina-d3 ¹	C ₁₇ H ₁₈ D ₃ NO ₄	-	307,0	→	185,0	3,8	50	25	10	-	-
Diazepam-d5 ¹	C ₁₆ H ₈ D ₅ ClN ₂ O	-	290,0	→	198,1	8,4	80	46	10	-	-
Fentanil-d5 ¹	C ₂₂ H ₂₃ D ₅ N ₂ O	-	342,0	→	188,0	5,0	80	20	10	-	-
THC-COOH-d3 ¹	C ₂₁ H ₂₅ D ₃ O ₄	-	348,0	→	330,0	11,0	80	30	10	-	-
Imipramina-d3 ¹	C ₁₉ H ₂₁ D ₃ N ₂	-	284,0	→	89,0	6,5	80	20	10	-	-
MDMA-d5 ¹	C ₁₁ H ₁₀ D ₅ NO ₂	-	199,0	→	165,0	2,9	80	20	10	-	-
Nortriptilina-d3 ¹	C ₁₉ H ₁₈ D ₃ N	-	267,0	→	233,0	6,8	50	41	10	-	-
MDA-d5 ¹	C ₁₀ H ₈ D ₅ NO ₂	-	185,0	→	168,1	2,9	80	20	10	-	-

Padrão interno. 7-AF: 7-aminoflunitrazepam; α -PVT: α -pirrolidinopentiotiona; BZE: benzoilecgonina; BZP: benzilpiperazina; CE: energia de colisão; CXP: potencial de saída da célula de colisão; DMT: dimetiltriptamina; DP: potencial de descloração; EME: éster metílico de ecgonina; I.S.: padrão interno; MDA: metilenodioxianfetamina; LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; MDMA: 3,4-metilenodioximetanfetamina; MDEA: metilenodioximetil-etilanfetamina; MDPV: metilenodioxipirovalerona; MA: metanfetamina; RT: tempo de retenção; THC: tetrahydrocannabinol; THC-COOH: 11-nor-9-carboxi-THC; THH: tetrahydroharmina; TH-PVP: tetrametileno- α -pirrolidinovalerofenona.

4.3 Coleta, armazenamento e tratamento das amostras

As amostras foram coletadas de maneira anônima entre voluntários frequentadores de uma festa de música eletrônica em Brasília, em setembro de 2023. A abordagem foi realizada no próprio ambiente recreativo, e não houve preenchimento de termo de consentimento, portanto nenhuma informação comprometedora do anonimato era coletada (como sexo, idade entre outros). As amostras foram coletadas em tubo Falcon de 50 mL e transferidas para vials de 2 mL com pipetas de Pasteur descartáveis, armazenadas em bolsa térmica contendo gelo seco. Ao final da coleta de campo, as amostras foram transferidas para o freezer com temperatura de -20°C.

Todas as amostras foram analisadas em até 72 horas, tempo otimizado na etapa de validação do método pelo grupo de pesquisa LabTox, garantindo valores aceitáveis de perda dos analitos (perda de até 20 %, considerando a concentração inicial). Os resultados foram enviados para os voluntários que disponibilizaram as amostras de fluido oral, a fim de fornecer informações toxicológicas aos doadores.

4.3.1 Tratamento das amostras

O método de preparação de amostras (Figura 14) previamente otimizado para amostras de sangue e urina (Ferrari e Caldas, 2021), foi modificado para amostras de fluido oral e validado pelo grupo de pesquisa LabTox . Em um microtubo de 2 mL, foram adicionados 400 μ L de ACN, 400 μ L de água e 200 mg de $MgSO_4$ /NaOAc anidro (4:1) a 200 μ L de fluido oral. O microtubo foi agitado (15 seg.) e centrifugado (3500 rpm/5 min). O sobrenadante foi transferido para outro microtubo contendo 10 mg de PSA e 30 mg de $MgSO_4$, agitado (15 seg.) e centrifugado (3500 RPM/5 min). O sobrenadante, que é menos denso e fica na parte superior, foi pipetado com atenção de modo á evitar que inclua a mucina presente na fase aquosa, pois esta contribui para o efeito matriz nas análises e dificulta obtenção de resultados.

200 μ L do sobrenadante foram evaporados sob vácuo, reconstituídos em 100 μ L de água/metanol 0,1 % de ácido fórmico (1:1), transferidos para um vial com micro insert com capacidade de 150 μ L e injetados para análise por LC-MS/MS. Necessariamente o procedimento de tratamento das amostras deve ser realizado nesta ordem descrita na Figura 14.

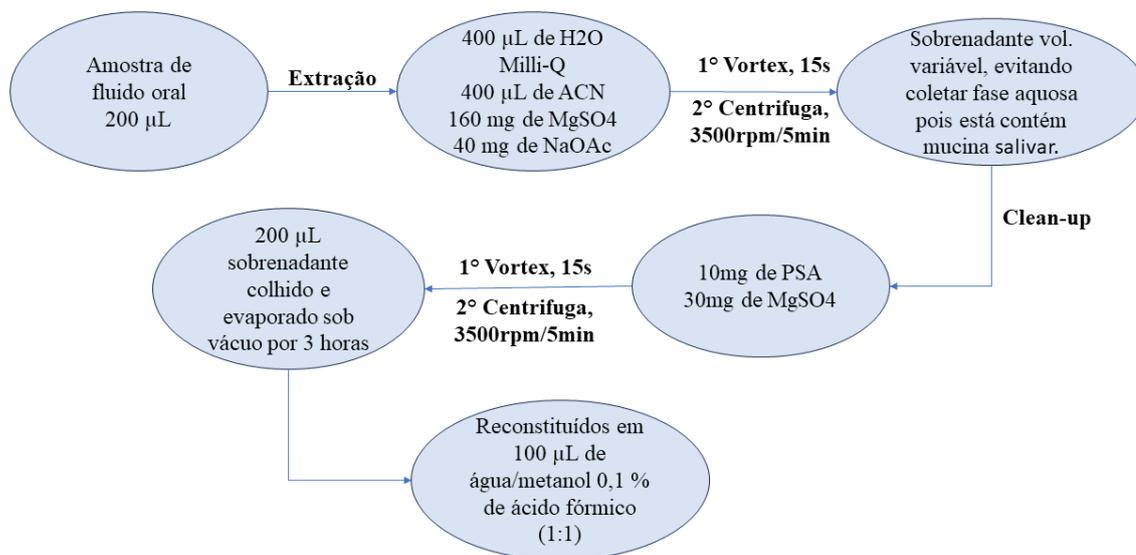


Figura 14: QuEChERS acetato modificado para análise de drogas em fluido oral.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Amostras coletadas

A Figura 15 mostra um cromatograma de amostra de fluido oral fortificada usada na etapa de validação com concentração de 12 ng/mL para 25E-NBOMe, AB-CHMINACA, AH-7921, AKB-48, BZE, EME, fentanil, JWH-018, JWH-081, JWH-210 e LSD; 120 ng/mL para THC-COOH; e 60 ng/mL para as outras 50 substâncias, possuindo mistura de padrão interno de 20 ng/mL. Na Figura é possível verificar que inúmeros picos se sobrepõem, todavia os tempos de retenção próximos não foram um fator prejudicial à análise isto ocorre pela similaridade estrutural das muitas moléculas contidas no método. Destacado na Figura 15, também, há no canto superior esquerdo o pico de uma anfetamina, e no canto superior direito o pico de uma catinona sintética.

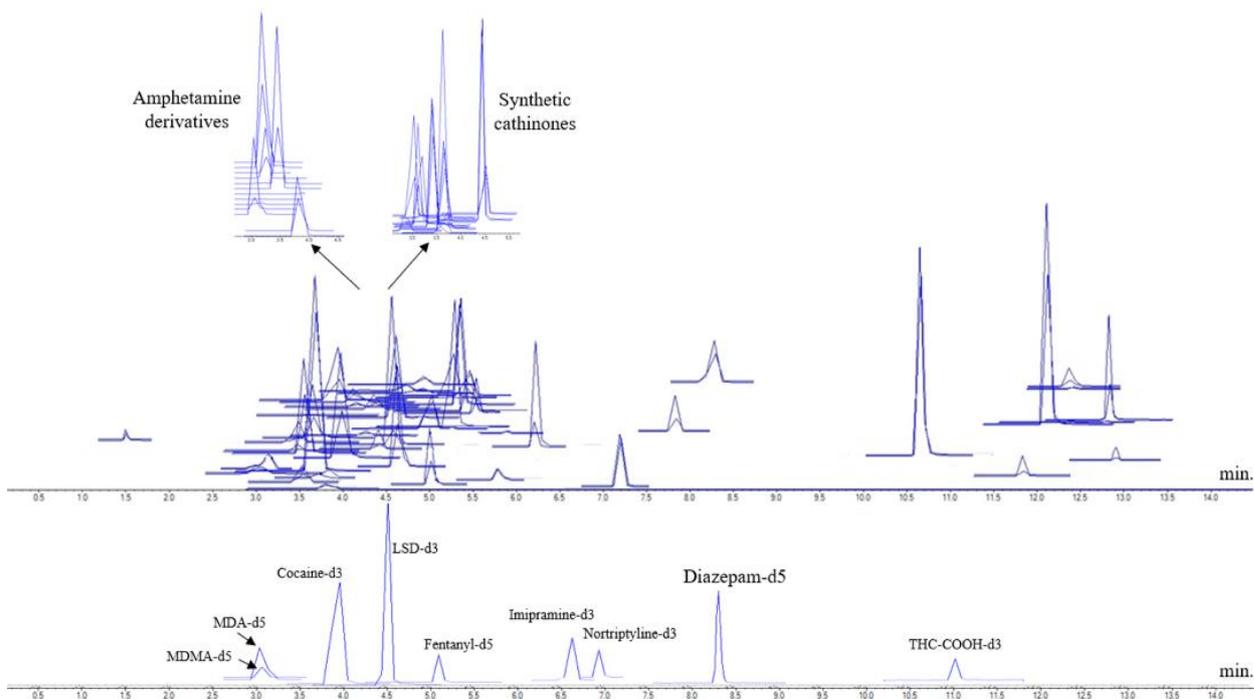


Figura 15: Cromatograma de fluido oral fortificado contendo os compostos analisados e os 9 padrões internos do método.

O resultado da análise de 35 amostras coletadas está descrito na Tabela 2. Desses, 13 indivíduos tiveram como resultando ND (não detectado). Entre os participantes, 14 relataram ter consumido comprimidos de “ecstasy” ou “MD”. Esses termos são comumente utilizados para se referir a preparações que supostamente contêm 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA). Destes, em 7 amostras MDMA foi detectada juntamente com MDA e/ou

metanfetamina. Vale ressaltar que todos os participantes que tiveram MDMA/metanfetamina detectada relataram ter ingerido mais de um comprimido artesanal. Em 2 amostras, apenas o MDA foi detectado, um metabólito ativo do MDMA no organismo, mas que também é vendido como substância psicoativa nas ruas.

Em uma amostra, detectada a eutilona, uma catinona sintética, substância que não foi detectada em nenhuma das apreensões de drogas no Distrito Federal, em 2023. Dois participantes relataram consumir “ket” (pó branco), e na análise houve detecção de cetamina (variando de 290,6 a 375,3 ng/mL) e seu metabólito norcetamina (variando de 15,3 a 150,2 ng/mL).

Tabela 2: Resultados de 35 amostras de fluido oral e os relatórios dos voluntários: forma de dosagem e substância psicoativa utilizada, e tempo decorrido entre o consumo e a coleta.

Amostra	Forma de uso	Substância	Tempo entre uso e coleta	Resultados (ng/mL)
1	Comprimido	NI	>24h,	ND
2	Comprimido	MD	<24h,	MDMA (829,0), MDA (67,6), MA (439,0), AMP (0,7)
3	Pó branco	Cocaina	<24h	Cocaina (407,3), BZE (162,9), EME (83,9)
4	Crack	Cocaina	<24h	BZE (65,6), EME (51,4)
5	Selo em papel	LSD	<4h,	LSD (0,6)
6	Comprimido	NI	<24h	MDMA (< 0,5; detectado), MDA (191,8)
7	Comprimido	MD	>24h	ND
8	Comprimido	Êxtase	<24h	MDA (274,5)
9	Pó branco	Cocaina	<4h,	Cocaina (369,0), BZE (214,1), EME (150,1)
10	Pó branco	Cocaina	<2h,	Cocaina (312,9), BZE (62,1), EME (36,9)
11	Comprimido e Selo em papel	Êxtase; LSD	Minutos	MDMA (26,1), MDA (128,9), MA (11,0), 25B-NBOH
12	Comprimido	MD	>24h,	ND
13	Comprimido	MD	<24h	MDA (265,9)
14	Comprimido	NI	<24h	ND
15	Selo em papel	Ácido	Minutos	LSD (68,3)
16	Comprimido	MD	>24h,	ND
17	Comprimido	MD	>24h,	Eutilona (4,7)
18	Comprimido	NI	>24h,	ND
19	Comprimido	Êxtase	<2h,	MDMA (478,0), MDA (309,7), MA (74,8)
20	Anfetamina; Ropinol	NI	<24h	AMP (1,8), 7-AF (2,9)

Amostra	Forma de uso	Substância	Tempo entre uso e coleta	Resultados (ng/mL)
21	Comprimido	NI	>24h,	ND
22	Comprimido e selo em papel	“MD”; LSD	Minutos	MDMA (112,6), MDA (339,6), MA (39,2), 25B-NBOH
23	Selo em papel	LSD	>24h	ND
24	Comprimido	NI	>24h,	ND
25	Pó branco	Cocaina	>24h,	Cocaina (26,8), BZE (0,17), EME (7,4)
26	Comprimido	NI	>24h,	ND
27	Pó branco	Ket	<24h	Cetamina (375,3), norcetamina (15,3)
28	Pílula capsula	Anfetamina	<24h	AMP (< 1,5; detectado)
29	Comprimido	NI	>24h,	ND
30	Pó branco	Ket	<24h	Cetamina (290,6), norcetamina (150,2)
31	Comprimido	MD	>24h,	ND
32	cigarro	DMT	<24h	DMT (9,0)
33	Comprimido	MD	<24h	ND
34	Comprimido	MD	<24h	MDMA (2,8), MDA (270,3)
35	Comprimido	Êxtase	<24h	MDMA (2,2), MDA (45,3)

25B-NBOH: análise qualitativa, 7-AF: 7-aminoflunitrazepam; AMP: anfetamina; ND: não detectado; BZE: benzoilecgonina; EME: éster metílico de ecgonina; MA: metanfetamina; MDA: metilenedioxianfetamina; MDMA: metilenedioximetanfetamina; NI: não informado; THC: tetrahidrocannabinol

Em 9 amostras, os doadores preferiram não divulgar qual substância haviam consumido, Considerando que este projeto representa uma abordagem inovadora e recente no DF - Brasil, os voluntários podem ter se sentido desconfortáveis ou hesitantes em fornecer informações detalhadas, resultando em respostas incompletas ou genéricas como no uso de termos como “<24h” (menos de 24 horas) e “>24h” (mais de 24 horas ou dias) para informar o tempo decorrido entre o uso de drogas e da doação de fluido oral.

Em quatro amostras, os voluntários alegaram o uso de LSD. Em duas delas, foi detectado 25B-NBOH, como mostrado na Figura 16, uma feniletilamina comercializada como alternativa ao LSD, que foi previamente detectada em selos apreendidos (Ferrari et al., 2020). 25B-NBOH pode ser também metabólito de 25B-NBOMe (Caspar et al., 2017). Nas duas amostras, houve também o consumo de comprimidos de êxtase (amostras 11 e 22, Tabela 2). E em duas outras amostras foi detectado LSD (0,6 e 68,3 ng/mL).

De acordo com Cunha et al. (2022), altas concentrações de LSD detectadas em fluido oral seriam compatíveis com contaminação da cavidade oral, devido ao pequeno intervalo de tempo entre o uso e a coleta, por exemplo. Portanto, a concentração de 68,3 ng/mL determinada em uma das amostras analisadas poderia ter esta interpretação. A contaminação da cavidade oral pode ser um dos fatores limitantes para se trabalhar com fluido oral. Considerando que as coletas foram realizadas em ambiente recreacional, o procedimento de lavagem e higienização da cavidade oral dos doadores, antes da coleta, seria de difícil implementação.

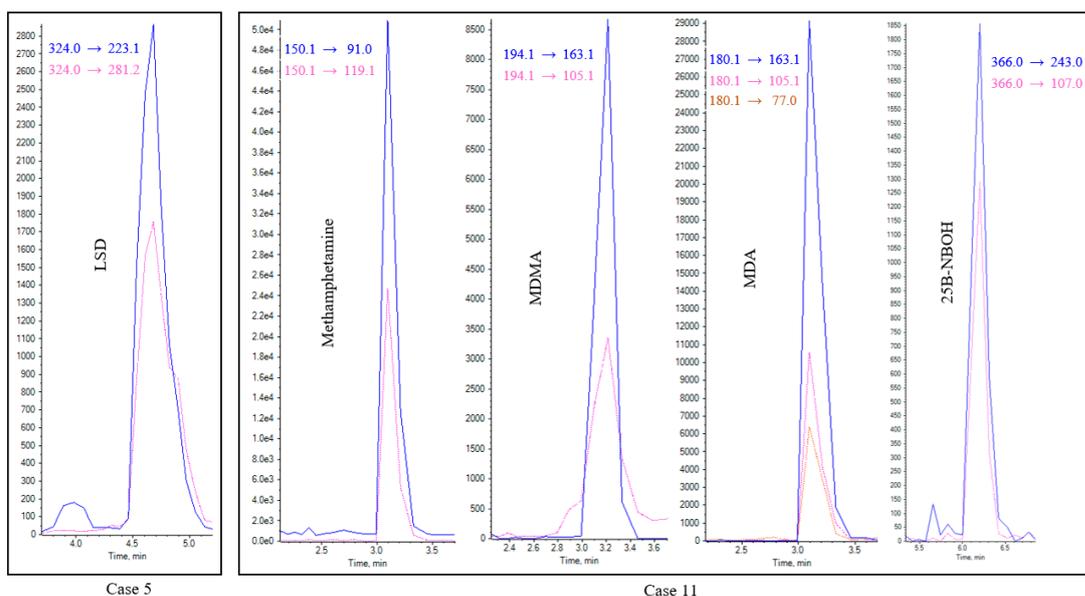


Figura 16: Cromatograma da amostra 5: LSD (0,6 ng/mL); amostra 11: MDMA (26,1 ng/mL), MDA (128,9 ng/mL), metanfetamina (11,0 ng/mL) e 25B-NBOH (detectado),

Cocaína e/ou seus metabólitos foram identificados em cinco amostras, em concentrações que variaram de 26,8 a 407,3 ng/mL para cocaína, 0,17 a 214,1 ng/mL para benzoilecgonina, 7,4 a 150,1 ng/mL para éster metílico de ecgonina. Entre os participantes, um relatou o uso de crack (fumado), enquanto outro relatou o uso de cloridrato de cocaína (inalado).

Muitas das drogas relatadas coincidiram resultados com o informado, 15 amostras positivas e coincidentes das 26 com informações completas - aproximadamente 57,69 %, . O que corrobora com estudo de Krotulski (2018), no qual a maioria dos achados analíticos se alinhavam ao informado, de 223 de amostras de fluido oral que foram coletadas de participantes que frequentavam festivais de música eletrônica de vários dias em Miami, Tampa e Atlanta; 121 (54,3%) tiveram resultados coincidentes.

De 35 amostras, 13 tiveram o resultado não detectado, sendo desses 7 amostras o doador voluntário quis informar qual o nome da substância, entretanto é inadequado alegar que não

tinham analitos presentes, e sim é possível levantar 3 hipóteses: que eram drogas e/ou metabolitos que não estão no método, drogas ou metabólitos que estão abaixo do limite de detecção, ou que realmente não houve uso de alguma substância psicoativa.

Dos 9 participantes que não informaram o nome da provável substância, e apenas informaram a forma de dosagem, 6 tiveram como resultado “não detectado” se encaixando nas hipóteses levantadas anteriormente, e as 3 amostras que tiveram resultado positivo coincidem com a forma de dosagem usuais de circulação das substâncias positivadas (MDMA,MD e/ou MA em forma de comprimido).

Nas 19 amostras em que o participante forneceu todas as informações solicitadas, e os resultados foram positivos, em apenas 4 os resultados não coincidiram com o informado, como na amostra 2 (presença de anfetamina), ou outras substâncias como na amostra 22 e amostra 11 em que a substância de uso informada foi LSD e o detectado foi 25B-NBOH. Tem-se também a amostra 17 no qual a substância de uso informada foi MD e a detectada foi uma NSP: a eutilona.

Sendo assim, a diferença entre as informações coletadas dos usuários e os resultados obtidos por meio da análise do fluido oral sugerem um desconhecimento a respeito da substância consumida entre os frequentadores de festas de música eletrônica,. Isso evidencia um comportamento de risco, no qual os usuários estão utilizando substâncias sem plena consciência do que são essas.

O trabalho em campo demonstrou dificuldades para realização da coleta de fluido oral, como a resistência dos usuários em participar do estudo e a falta confiança do anonimato que tornaram os usuários pouco receptivos à coleta, o que também refletiu na quantidade de usuários que procuraram pelos resultados analíticos ($n = 4$), sendo a parcela 11,4% dos participantes.

Como vantagens do método empregado, temos a coleta de fluido oral não estimulado, que evitou a diluição da amostra e da possível substância psicoativa presente; e a capacidade de fornecer uma resposta rápida aos usuários, que, por consequência, possibilitou a comparação com informações fornecidas pelos voluntários, mesmo que por vezes incompletas. Dessa forma, foi possível obter maior compreensão sobre quais informações o usuário possui sobre as drogas que foram consumidas e por conseguinte a depender dos resultados fornecer informações aos sistemas de alerta rápido, desta forma contribuindo com este serviço.

O emprego de espectrômetro de massas de alta resolução nas análises poderia ter colaborado para a identificação de substâncias não incluídas no método pois este instrumento é capaz de diferenciar e identificar compostos com base em suas massas moleculares e padrões

de fragmentação, mesmo que esses compostos não estejam inicialmente incluídos no método de análise, o que poderia ter diminuído a quantidade de amostras negativas.

6. CONCLUSÃO

O método analítico previamente validado pela equipe LabTox utilizado neste trabalho envolveu um protocolo QuEChERS acetato modificado para extração e limpeza, e determinação de 53 drogas de abuso e medicamentos e triagem de outras 24 substâncias psicoativas por LC-MS/MS, em amostras de fluido oral.

Os resultados obtidos de 35 amostras coletadas entre voluntários frequentadores de festa de música eletrônica no Distrito Federal demonstraram o desconhecimento do usuário sobre o tipo de substância psicoativa utilizada, o que pode trazer risco à saúde já que os efeitos podem ser totalmente inesperados. Essa informação disponibilizada aos usuários e aos profissionais das áreas de interesse é importante ferramenta para tomadas de decisão, ainda mais quando a resposta é disponibilizada de forma rápida, como fora aqui proposto.

Este estudo foi importante para entender mais sobre o conceito de substâncias psicoativas e as classes das NSP, a importância dos sistemas de alerta rápido, contribuindo para o monitoramento de quais substâncias estão em circulação, e a necessidade de um serviço de testagem para conscientização de usuários dos potenciais riscos na prática de consumo de drogas ilícitas.

7. REFERÊNCIAS

AAFS, American Academy of Forensic Sciences, Standard practices for method validation in forensic toxicology, Primeira edição, 2019. Disponível em: http://www.asbstandardsboard.org/wp-content/uploads/2019/11/036_Std_e1.pdf. Acesso em: 02 out 2023.

ALVES, A. D.O.; SPANIOL, B. ; LINDEN, R. Revisão da literatura Canabinoides sintéticos: drogas de abuso emergentes Synthetic cannabinoids: emerging drugs of abuse, **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 39, p. 142-148 , 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rpc/a/4RtqDCJQyFvx8z5VhYx3YdN/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 21 nov, 2023.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.J.; SCHENCK, F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the

- determination of pesticide residues in produce, **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-431, 2003. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/10779925_Fast_and_Easy_Multiresidue_Method_Employing_Acetonitrile_ExtractionPartitioning_and_Dispersive_Solid-Phase_Extraction_for_the_Determination_of_Pesticide_Residues_in_Produce>, Acesso em: 20 de jul, 2023.
- ANVISA, Agência nacional de vigilância sanitária, Orientação sobre a classificação genérica de substâncias proscritas “CLASSE ESTRUTURAL DAS FENILETILAMINAS”, 2019. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/controlados/lista/arquivos-controlados/6537json-file-1#:~:text=As%20feniletilaminas%20referem%2Dse%20a>>. Acesso em: 9 nov, 2023
- ANVISA, Agência nacional de vigilância sanitária, Grupo de trabalho para classificação de substâncias controladas Portaria N° 898/2015, 2017. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/controlados/novas-substancias/arquivos/6669json-file-1>>. Acesso em: 9 nov, 2023.
- BAGGOTT, M. J.; GARRISON, K. J.; COYLE, J. Effects of the Psychedelic Amphetamine MDA (3,4-Methylenedioxyamphetamine) in Healthy Volunteers, **Journal of Psychoactive Drugs**, v. 51, n. 2, p. 108–117, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30967099/>>. Acesso em: 19 dez, 2023.
- BRUNI, A. T.; HENRIQUE, C.; SANTOS, C. D. Analytical Challenges for Identification of New Psychoactive Substances: A Literature-Based Study for Seized Drugs, **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, v. 9 , p. 52-78, 2021. Disponível em: <<https://brjac.com.br/artigos/2021-V8-NX2/brjac-41-2021.pdf> >. Acesso em: 21 nov, 2023.
- CASPAR, A. T.; BRANDT, S. D.; STOEVEER, A. E. et al, Metabolic fate and detectability of the new psychoactive substances urine by GC–MS, LC–MSn, and LC–HR–MS/MS approaches, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v, 134, p, 158–169, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S073170851631007X>>. Acesso em: 10 nov, 2023.
- CDESC, Centro de Excelência para a Redução da Oferta de Drogas Ilícitas, Novas Substâncias Psicoativas e Sistemas de Alerta Rápido, 2022. Disponível em: <<https://cdebrasil.org.br/benchmarking/nsp-e-sar/>>. Acesso em: 21 nov, 2023.

- CUNHA, R. L. Drogas Sintéticas na Bahia e em Sergipe: estudo sobre prevalência de estimulantes do tipo anfetamina e novas substâncias psicoativas, 2021, Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2021, Disponível em: <https://ppgq.ufba.br/sites/ppgq.ufba.br/files/versao_final_de_tese_ricardo_leal_cunha.pdf>. Acesso em: 21 nov, 2023.
- CURRY, J.A.; TENUDA, L.M.A.; TABCHOURY, C.P.M. Capítulo 4: Composição, funções e propriedades da saliva , Bioquímica oral: Odontologia essencial- parte básica, Primeira edição, Editora Artes médicas LTDA, 2017.
- DEA’s Strategic Intelligence Section, National Drug Threat Assessment, EUA, p. 91-98, 2019. Disponível em : <https://www.dea.gov/sites/default/files/2020-01/2019-NDTA-final-01-14-2020_Low_Web-DIR-007-20_2019.pdf>. Acesso em: 9 set 2023.
- DELIMA, A.J.; VAN DYKE, T.E. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid, **Periodontology** **2000**, v. 31, p. 55-76, 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12656996/>>. Acesso em: 10 nov, 2023,
- EMCDDA, European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, Synthetic cannabinoids and “Spice” drug profile, 2019. Disponível em: <https://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/synthetic-cannabinoids_en#>. Acesso em: 21 nov, 2023.
- FERRARI JÚNIOR, E.; CALDAS, E. D. Determination of new psychoactive substances and other drugs in postmortem blood and urine by UHPLC–MS/MS: method validation and analysis of forensic samples, **Forensic Toxicology**, v. 40, p. 88–101, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33081562/>>. Acesso em: 15 nov, 2022.
- FERRARI JÚNIOR, E. ; CALDAS, E. D. Simultaneous determination of drugs and pesticides in postmortem blood using dispersive solid-phase extraction and large volume injection-programmed temperature vaporization-gas chromatography–mass spectrometry, **Forensic Science International**, v. 290, p. 318–326, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30121553/>>, Acesso em: 8 set, 2023.
- FERRARI, E. J.; ARANTES, L.C.; SALUM, L.B., CALDAS, E.D. Analysis of non-derivatized 2-(4-R-2,5-dimethoxyphenyl)-N-[(2-hydroxyphenyl)methyl]ethanamine using short column gas chromatography - mass spectrometry, **Journal of Chromatography**, v. 1634, p. 461657, 2020. Disponível em:

<https://www.toxicologia.unb.br/img_banners_publicidade/1605455794,6-img.pdf>.

Acesso em: 15 nov, 2023.

GALLARDO, E.; BARROSO, M.; CONCHEIRO, M. Editorial: Current Analytical Trends in Drug Testing in Clinical and Forensic Toxicology, **Frontiers in Chemistry**, v. 9, p. 673397, 2021. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10,3389/fchem,2021,673397/full>>, Acesso em: 21 nov, 2023,

HONDEBRINK, L.; MEULENBELT, J.; MEIJER, M.; *et al*, High concentrations of MDMA ('ecstasy') and its metabolite MDA inhibit calcium influx and depolarization-evoked vesicular dopamine release in PC12 cells, **Neuropharmacology**, v. 61, p. 202–208, 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0028390811001456?via%3Dihub>>. Acesso em: 9 nov, 2023.

HUMPHREY, S,P.; WILLIAMSON, R,T, A review of saliva: normal composition,flow, and function, **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 85, p. 162-169,2001. Disponível em: <https://www.unboundmedicine.com/medline/citation/11208206/A_review_of_saliva:_normal_composition_flow_and_function_>. Acesso em: 10 nov, 2023.

IVERSERN, L. Speed, Ecstasy, Ritalin: the Science of Amphetamines, Oxford: Oxford University Press, online EDN, 2008.

KROTULSKI, A.J.; MOHR, A.L.A.; FOGARTY, M.F.; LOGAN, B.K. The Detection of Novel Stimulants in Oral Fluid from Users Reporting Ecstasy, Molly and MDMA Ingestion, **Journal of Analytical Toxicology**, v. 42, n. 8, p. 544–553, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30371847/>> . Acesso em: 21 nov, 2023.

LUETHI, D.; LIECHTI, M. E. Designer drugs: mechanism of action and adverse effects, **Archives of Toxicology**, v. 94, p. 1085–1133, 2020. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10,1007/s00204-020-02693-7>>. Acesso em: 9 nov, 2023

MJSP, Ministério da Justiça e Segurança Pública, Resolução nº 6, de 3 de agosto de 2021, Cria, em caráter experimental, no âmbito do Sistema Nacional de Políticas sobre Drogas, o SUBSISTEMA DE ALERTA RÁPIDO SOBRE DROGAS (SARs). Relator: Ex-ministro Anderson Gustavo Torres. Brasília-DF, 3 de agosto de 2021, Diário da Justiça Eletrônico. Disponível em: <<https://www.gov.br/mj/pt-br/assuntos/sua-protecao/politicas-sobre>>

drogas/subsistema-de-alerta-rapido-sobre-drogas-sar/resolucao_n_6_de_3_de_agosto_de_2021.pdf >. Acesso em: 9 nov, 2023

MOLNÁR, A.; LEWIS, J. H.; FU, S. Recovery of spiked Δ^9 -tetrahydrocannabinol in oral fluid from polypropylene containers, **Forensic Science International**, v. 227, n. 1-3, p. 69–73, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037907381200521X?via%3Dihub>>. Acesso em: 9 nov, 2023.

OLIVEIRA, A.P.R.S.; CARVALHO, C.O.; BRANDÃO, I.P. Utilização de saliva para o diagnóstico laboratorial, **Revista Brasileira de análises clínicas**, v. 53, n. 1, p. 32-40, 2021. Disponível em: <<https://www.rbac.org.br/artigos/utilizacao-de-saliva-para-o-diagnostico-laboratorial/>>. Acesso em: 5 nov, 2023.

OMS, Organização Mundial da Saúde, Neurociências: consumo e dependência de substâncias psicoativas: resumo, **Bvsalud.org**, p. 8–12, 2004. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/bvsmis/resource/pt/mis-5549>>, Acesso em: 5 nov, 2023,

PRESTES, O. D.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B. QuEChERS: um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas, **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1620–1634, 2009. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/BJq59mTbNC6HhzTcSW5vpTp/#>>, Acesso em: 30 jul, 2023.

SOUSSAN, C.; KJELGREN, A. The users of Novel Psychoactive Substances: Online survey about their characteristics, attitudes and motivations, **International Journal of Drug Policy**, v. 32, n. 4, p. 77-84, 2016, <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955395916300767>>. Acesso em: 9 nov 2021.

SWGTOX, Scientific Working Group for Forensic Toxicology, Standard for Laboratory Personnel, **Journal of Analytical Toxicology**, v. 39, p. 241–250, 2015, Disponível em: <<https://www.nist.gov/document/swgtoxstdforlabpersonnelpdf>>. Acesso em: 02 out 2023.

UNODC, Early Warning Advisory on new psychoactive substances, NPS Data Visualisations, 2023. Disponível em: <<https://www.unodc.org/LSS/Page/NPS/DataVisualisations>>, Acesso em: 5 set, 2023.

UNODC. Executive summary policy implications, Vienna, 2022^a. Disponível em: <https://www.unodc.org/res/wdr2022/MS/WDR22_Booklet_1.pdf>. Acesso em: 10 out, de 2023.

UNODC. Drug market trends cannabis and opioids, New York, 2022c. Disponível em: <https://www.unodc.org/res/wdr2022/MS/WDR22_Booklet_3.pdf>. Acesso em: 10 out, de 2023.

UNODC. Subsistema de Alerta Rápido sobre Drogas no Brasil lança primeiro informe, 2022, Disponível em: <<https://www.unodc.org/lpo-brazil/pt/frontpage/2022/01/subsistema-de-alerta-rpido-sobre-drogas-no-brasil-lana-primeiro-informe.html>>. Acesso em: 10 out, 2023.

UNODC. The challenge of new psychoactive substances: a report from the Global SMART Programme, Vienna, 2013, Disponível em: <https://www.unodc.org/documents/scientific/NPS_Report.pdf>. Acesso em: 09 nov, 2023

WAGMANN, L.; MAURER, H. H. Bioanalytical Methods for New Psychoactive Substances, **Handbook of experimental pharmacology**, v. 252, p. 413–439, 2018, Disponível em: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/164_2017_83>. Acesso em: 21 nov, 2023.