

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE – UFCSPA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA  
SAÚDE**

**Letícia Birk**

**Determinação de catinonas sintéticas e  
outras substâncias psicoativas por  
ionização *paper spray* acoplada à  
espectrometria de massas de alta resolução**

**UFCSPA**  
Universidade Federal de Ciências da Saúde  
de Porto Alegre

**Porto Alegre  
2021**

**Letícia Birk**

**Determinação de catinonas sintéticas e  
outras substâncias psicoativas por  
ionização *paper spray* acoplada à  
espectrometria de massas de alta resolução**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Tiago Franco de Oliveira  
Coorientador: Prof. Dr. Josias de Oliveira Merib

**Porto Alegre  
2021**

Catálogo na Publicação

Birk, Letícia

Determinação de catinonas sintéticas e outras substâncias psicoativas por ionização paper spray acoplada à espectrometria de massas de alta resolução / Letícia Birk. -- 2021.

59 p. : 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2021.

Orientador(a): Prof. Dr. Tiago Franco de Oliveira ;  
coorientador(a): Prof. Dr. Josias de Oliveira Merib.

1. NPS. 2. Catinonas sintéticas. 3. PSI. 4. HRMS. I. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Primariamente, agradeço aos meus pais por sempre terem prezado pela minha educação e incentivarem todos meus sonhos. Obrigada por me apoiarem em minhas escolhas e me darem todo o suporte possível. Também agradeço ao meu namorado Lucas por sempre demonstrar interesse no meu trabalho mesmo sem entender do que se tratava. Obrigada por acreditar em mim e ser meu ponto de apoio em diversos momentos.

Agradeço à Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da pela oportunidade de cursar o mestrado e pelo acesso ao laboratório e o acompanhamento recebido para a conclusão deste projeto. Agradeço também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de pesquisa recebida.

Agradeço ao meu orientador Prof. Tiago pelo incentivo a seguir na pesquisa, pelo voto de confiança no meu trabalho, pelo compartilhamento de ideias e por transmitir sua paixão pelo que faz. Ao meu coorientador Prof. Josias pela paciência, conselhos e ensinamentos valiosos, e por sempre se preocupar com a qualidade do meu aprendizado.

Ao Grupo de Pesquisa em Espectrometria de Massas da UFCSPA, por todo companheirismo, aprendizados e momentos vividos juntos. Agradeço em especial à Camila, minha parceira em toda caminhada no mestrado, à Sara, que acompanhou meu projeto na iniciação científica com muita dedicação, e à Prof. Sarah por toda assistência que sempre me deu sem medir esforços.

Agradeço também ao Instituto de Perícias do Rio Grande do Sul pela colaboração no trabalho e fornecimento das amostras, e à Gabriela, ao Rafael e ao Prof. Eduardo Carasek pela parceria e conhecimentos aplicados a este trabalho.

A todos meus amigos e familiares que sempre torceram por mim.

Meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

Novas substâncias psicoativas (NPS) vêm ganhando espaço entre as drogas de abuso clássicas nos últimos anos. Entre as diversas classes de NPS, destacam-se, no Brasil, as substâncias estimulantes como catinonas sintéticas e fenetilaminas. A determinação das catinonas é geralmente conduzida por metodologias analíticas como a cromatografia gasosa ou líquida acoplada à espectrometria de massas. Estes métodos consomem recursos e tempo, além da necessidade de um preparo que pode comprometer a integridade da amostra. Neste cenário, a ionização por *paper spray* (PSI) permite, em casos específicos, excluir esta etapa, resultando em uma análise rápida e não destrutiva. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma técnica de ionização por PSI-HRMS utilizando baixa voltagem e aplicá-la na identificação de catinonas em amostras de selos. Diferentes amostras (n=6) de selos apreendidas foram analisadas em um sistema de ionização por *paper spray* construído no laboratório. Os selos foram recortados em formato “tipo triângulo” e posicionados a uma distância de 3 mm do *inlet* de um equipamento de espectrometria de massas de alta resolução (micrOTOF-Q™ III, Bruker Daltonics, Alemanha). A ionização foi conduzida com uma energia de 9V proveniente de uma bateria alcalina simples e pela adição de alíquotas de 50 µL de metanol. O tempo total de análise para cada amostra foi de 5 segundos. Seis amostras de selos apreendidos foram analisadas e somente o íon protonado  $[M+H]^+$  foi detectado. Os compostos LSD ( $m/z$ , 324,2058); 25C-NBOH ( $m/z$ , 322,1212); 25E-NBOH ( $m/z$ , 316,1917); 25I-NBOME ( $m/z$ , 428,0699); DOB ( $m/z$ , 274,0432); e 4F-PHP ( $m/z$ , 264,1768) foram detectados com um erro de massa < 5 ppm. As amostras foram analisadas por outras técnicas (GC-MS, IR e H-NMR) para confirmação dos resultados. A técnica analítica proposta consiste em uma ferramenta versátil para análise de inúmeros compostos. A substituição de alta voltagem (3-5kV), geralmente empregada neste tipo de ionização, por uma bateria de 9V simplifica a confecção e operação da fonte. A análise é de baixo custo, rápida, simples e sensível confirmando sua importância para utilização como triagem nas análises forenses.

**Palavras chave:** NPS, Catinonas sintéticas, PSI, e HRMS.

## ABSTRACT

New psychoactive substances (NPS) have been gaining attention among classic drugs of abuse in recent years. Among the different classes of NPS, stimulating substances including synthetic cathinones and phenethylamines are the most consumed in Brazil. Generally, gas or liquid chromatography coupled with mass spectrometry are used for the identification of NPS drugs. These methods are time consuming and require a sample pretreatment that can easily destroy the sample integrity. Paper spray ionization (PSI) method can sometimes exclude the need of complex sample pretreatment resulting in a faster and non-destructive analysis. The aim of the present study was to propose a low-voltage PSI technique and its application for the determination of cathinones in street drug blotter samples. Seized blotter samples were analyzed by an in-house constructed low-voltage PSI source coupled to a Q-TOF mass spectrometer (micrOTOF-Q III, Bruker Daltonics, Germany). The samples were cut in triangles and directed toward to the MS inlet in a distance of 3 mm. Ionization occurred through application of low voltage by a power supply comprised of a 9V battery and the addition of a 50  $\mu$ L aliquot of methanol. Total sample time analysis was 5 seconds. In total, six different samples were analyzed and in all cases only the  $[M+H]^+$  ion was detected. The substances LSD (m/z, 324.2058); 25C-NBOH (m/z, 322.1212); 25E-NBOH (m/z, 316.1917); 25I-NBOME (m/z, 428.0783); DOB (m/z, 276.0404); and 4'-fluoro- $\alpha$ -pyrrolidinohexanophenone (m/z, 264.1768) were detected with a mass error of  $< 5$  ppm. The substances were analyzed by other techniques (GC-MS, IR and H-NMR) to confirm the results. The results presented here propose a versatile technique for the direct and nondestructive analysis of diverse chemical compounds. The replacement of a high voltage source for a 9V battery simplifies the ionization source manufacturing. The analysis is sensitive, easy and fast to perform, confirming its applicability and importance to forensic screening purposes.

**Keywords:** NPS, Synthetic cathinones, PSI, and HRMS.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Molécula base para a síntese das cationonas sintéticas .....	17
<b>Figura 2</b> - Esquema de funcionamento da ionização por <i>paper spray</i> .....	22

## LISTA DE ABREVIATURAS

4F-PHP	4'-fluoro- $\alpha$ -pirrolidinohexanofenona
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APCI	Ionização química por pressão atmosférica, do inglês: <i>atmospheric-pressure chemical ionization</i>
BHE	Barreira hemato-encefálica
CBS	<i>Coated Blade Spray</i>
DART	Análise direta em tempo real, do inglês: <i>direct analysis in real time</i>
DBS	<i>Dried blood spots</i>
DDA	Aquisição dependente de dados, do inglês: <i>data-dependent acquisition</i>
DESI	Ionização por dessorção via eletrospray, do inglês: <i>desorption electrospray ionization</i>
DIA	Aquisição independente de dados, do inglês: <i>data-independent acquisition</i>
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês: <i>dispersive liquid-liquid microextraction</i>
DOB	2,5-dimetoxi-4-bromoanfetamina
EMCDDA	Observatório Europeu da Droga e da Toxicodependência, do inglês: <i>European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction</i>
ESI	Ionização por eletrospray, do inglês <i>electrospray ionization</i>
EWA	<i>Early Warning Advisory</i>
FT-IR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, do inglês: <i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>
GC	Cromatografia gasosa, do inglês: <i>gas chromatography</i>
HRMS	Espectrometria de massas de alta resolução, do inglês: <i>high resolution mass spectrometry</i>
LC	Cromatografia líquida, do inglês: <i>liquid chromatography</i>
LLE	Extração líquido-líquido, do inglês: <i>liquid-liquid extraction</i>
LSD	Dietilamida do ácido lisérgico
MDA	3,4-metilenodioxianfetamina
MDMA	3,4-metilenodioximetanfetamina
MDPV	Metilenodioxipirovalerona
MEPS	Microextração por sorbente empacotado, do inglês: <i>microextraction by packed sorbent</i>

MS	Espectrometria de massas, do inglês: <i>mass spectrometry</i>
MS/MS	Espectrometria de massas em tandem
NPS	Novas substâncias psicoativas, do inglês: <i>new psychoactive substances</i>
PF	Polícia Federal
PSI	Ionização por <i>paper spray</i>
RMN	Ressonância magnética nuclear
SNC	Sistema Nervoso Central
SPE	Extração em fase sólida, do inglês: <i>solid phase extraction</i>
SPME	Microextração em fase sólida, do inglês: <i>solid-phase microextraction</i>
THC	$\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol
UNODC	Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime, do inglês: <i>United Nations Office of Drug and Crime</i>

## SUMÁRIO

<b>1 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>11</b>
<b>1.1 Novas substâncias psicoativas .....</b>	<b>11</b>
<b>1.1.1 Catinonas sintéticas .....</b>	<b>16</b>
<b>1.2 Técnicas analíticas para a determinação de NPS .....</b>	<b>19</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>29</b>
<b>2.1 Objetivo Geral .....</b>	<b>29</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos .....</b>	<b>29</b>
<b>3 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>30</b>
<b>4 ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>39</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXO A - Normas da revista .....</b>	<b>54</b>

## 1 REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1 Novas substâncias psicoativas

Novas substâncias psicoativas (NPS) são tradicionalmente definidas pelo Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC) como “substâncias de abuso, em forma pura ou preparação, que não são controladas pela Convenção Única sobre Entorpecentes (1961) ou a Convenção de Substâncias Psicotrópicas (1971), mas que podem provocar uma ameaça à saúde pública” (UNODC, 2020b). De forma geral, são compostos utilizados com o intuito de contornar legislações que regulamentam as substâncias psicotrópicas e evitar detecção por métodos tradicionais de triagem (FAGIOLLA, HAHN e AVELLA, 2018). Entre os principais atrativos apresentados por estas substâncias encontra-se o aparente status “legal”, o menor custo em relação a drogas clássicas e a grande disponibilidade de compra e venda através da *internet* (SIMONIS *et al.*, 2020). A terminologia “novas” não se refere necessariamente a drogas recentemente sintetizadas, pois algumas substâncias já são disponibilizadas há muitos anos, mas sim, a compostos atualmente comercializados e consumidos com o intuito recreacional (UNODC, 2020b). Até o mês de outubro de 2020, foi reportado um número superior a mil substâncias elencadas como NPS em 125 países, reforçando o problema emergente que estas substâncias representam (UNODC, 2020a).

Devido à grande variedade de compostos que são rotineiramente apreendidos, classificações são frequentemente utilizadas para uma melhor avaliação. A classificação das NPS pode ser baseada no perfil químico, efeitos psicoativos ou na origem (natural ou sintética) (ESTEVE-TURILLAS, ARMENTA e DE LA GUARDIA, 2020). As classes químicas adotadas pelo UNODC são as seguintes: aminoindanos; substâncias do tipo fenciclidina; fenetilaminas; piperazinas; substâncias vegetais; canabinoides sintéticos; catinonas sintéticas; e triptaminas e outras substâncias (UNODC, 2020b). Se considerados os efeitos psicoativos, NPS podem ser classificadas em quatro classes de substâncias que incluem: estimulantes do sistema nervoso central (SNC); agonistas dos receptores canabinoides; alucinógenos e psicodélicos; depressivos e sedativo-hipnóticos (ESTEVE-TURILLAS, ARMENTA e DE LA GUARDIA, 2020). Estes compostos são comumente encontrados no mercado com as seguintes denominações: sais de banho, químicos em pesquisa ou *legal highs*, nomes que visam encobrir o conteúdo real das embalagens (WELTER-LUEDEKE e MAURER, 2016). As principais formas de veiculação das NPS são na forma de pós, cristais, comprimidos, materiais vegetais e selos, com prevalência característica de uma ou outra forma para cada classe química. As vias

de administração irão variar de acordo com o veículo, sendo as mais comuns a via oral para comprimidos, selos e pós, via intranasal para pós e cristais, via pulmonar para material vegetal e via intravenosa para soluções preparadas a partir da solubilização de pós, cristais e comprimidos (ZAWILSKA, 2015).

No cenário recreacional, os efeitos desejados ao consumir NPS incluem aumento de energia e performance, busca por prazer e aumento da sociabilidade tanto pela diminuição da timidez, quanto pela sensação de pertencer a um grupo. Diferentes indivíduos relatam a curiosidade e a busca por autoconhecimento como elementos motivacionais do consumo dessas substâncias. Além disso, em alguns grupos é identificada a correlação com fatores que envolvem o contexto social e psicológico, como a fuga de problemas pessoais do cotidiano ou a depressão (SIMONIS *et al.*, 2020). Entretanto, o uso de NPS pode levar a uma série de efeitos adversos cujo potencial e mecanismos de ação ainda não foram estabelecidos e novos estudos são necessários para elucidar esses pontos. Nesse sentido, boa parte dos dados relacionados com efeitos adversos são provenientes de estudos observacionais de casos atendidos por unidades de assistência toxicológicas (PEACOCK *et al.*, 2019). No caso da exposição à NPS estimulantes, são esperados efeitos simpatomiméticos similares às drogas estimulantes tradicionais, como hipertermia, hipertensão, taquicardia, midríase, ansiedade, náuseas e vômitos, entre outros. Por outro lado, NPS sedativos como os opioides e benzodiazepínicos sintéticos podem levar a depressão do sistema nervoso central, depressão respiratória, bradicardia, miose, tonturas, entre outros e também podem incluir sintomas de agitação, taquicardia e hipertermia em alguns casos. Compostos psicodélicos podem apresentar sintomas simpatomiméticos além de alucinações e confusão, que em casos mais graves podem levar a quadros de psicose, convulsões e coma (LOGAN *et al.*, 2017; LUETHI e LIECHTI, 2020). Adicionalmente, as diferentes NPS podem promover efeitos adversos psicológicos como a confusão mental, comprometimento cognitivo, irritabilidade e agressividade acarretando em comportamentos destrutivos, violentos e delírio. O uso prolongado dessas substâncias pode levar a acometimentos psicopatológicos importantes como a inibição da atividade neuronal e anomalias cerebrais (RINALDI *et al.*, 2020). Em diversos casos, os efeitos adversos podem contribuir indiretamente para o óbito do indivíduo consumidor, podem evoluir e se tornar a causa direta da morte. Fatores indiretos incluem o comprometimento da atenção do indivíduo que pode torná-lo mais suscetível a acidentes e a exposição a um contexto de violência pelo aumento da agressividade, entre outros. No entanto, dados relacionados a fatalidades causadas pelo uso de NPS são diversos e requerem cautela na interpretação devido aos inúmeros vieses das análises *post-mortem*, visto que muitos fatores podem alterar as concentrações dos

xenobióticos nas matrizes incluindo o tempo decorrente entre a administração da droga e o óbito, as alterações cadavéricas, o tempo entre o óbito e a coleta da amostra, o sítio de coleta da amostra e principalmente, o fenômeno de redistribuição *post-mortem* (KRAEMER *et al.*, 2019).

Entre as principais dificuldades relacionadas à problemática das NPS está a dinâmica de mercado dessas substâncias, que é extremamente rápida e sujeita a diversos fatores. Por exemplo, diversas NPS apresentaram altas taxas de identificação após terem sua estrutura identificada, porém, depois de certo tempo são dificilmente reportadas. Isso se deve ao fato de que, quando identificada a estrutura da droga, ela passa a ser incluída em metodologias utilizadas pelos laboratórios levando a um aumento nas taxas de prevalência. Porém, também é realizada a inclusão da droga na legislação que passa a estar sob controle regional, o que leva a diminuição da distribuição dessa substância em favorecimento ao surgimento de novos compostos (PEACOCK *et al.*, 2019; UNODC, 2020c). No entanto, algumas substâncias como mefedrona, 4-fluoroanfetamina e MDPV são comercializadas há muitos anos e sempre figuram em listas de apreensões, mesmo estando sob controle. Esse fato evidencia que, além da inclusão na legislação, outros fatores como a facilidade de síntese e a satisfação do indivíduo consumidor podem ter impacto nas mudanças do mercado.

O monitoramento da produção e distribuição mundial das NPS iniciou no ano de 2009 pelo UNODC. Desde essa época, 72 países reportaram a apreensão de pelo menos uma substância sintética em seu território, enquanto 57 países reportaram NPS de origem vegetal (UNODC, 2020c). O UNODC também foi responsável, em 2013, pela criação de um sistema de coleta de dados, o *Early Warning Advisory – EWA*, sobre NPS em amostras biológicas e material apreendido. Os dados são provenientes de laboratórios de toxicologia e instituições parceiras no mundo inteiro. Segundo o último relatório, entre as mais de 1000 NPS já identificadas, as mais prevalentes ainda pertencem aos grupos dos estimulantes, seguido por agonistas do sistema canabinoide e alucinógenos clássicos. No entanto, opioides sintéticos e substâncias sedativo-hipnóticas vem apresentando elevação considerável nos últimos anos. Um exemplo disso, é o percentual de 68% de NPS sedativo-hipnóticas associadas a casos de intoxicação em relação ao total de ocorrências, no período de janeiro de 2019 até abril de 2020 (UNODC, 2020a). Na Europa, o monitoramento do mercado de drogas de abuso, incluindo NPS, é realizado pelo Observatório Europeu da Droga e da Toxicodependência (EMCDDA, do inglês *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction*). Segundo a organização, o número de novas substâncias detectadas por ano está em queda desde 2015, sendo que em 2019 foram reportados 53 novos compostos. Entretanto, o número total de NPS detectadas a cada

ano continua acima de 400 compostos. As duas classes mais prevalentes são as catinonas e os canabinoides sintéticos, representando juntos cerca de 77% de todas NPS (EMCDDA, 2020). Na América, há uma diferença clara da distribuição das NPS. Canadá e Estados Unidos, apresentam dados similares aos de países europeus, com prevalência do uso de canabinoides sintéticos. Na América Latina, a inclusão das NPS no mercado ilícito é mais tardia quando comparado à Europa e os compostos predominantes são majoritariamente estimulantes ou alucinógenos (CICAD, 2019).

No Brasil, o conhecimento sobre a real distribuição de NPS é escasso, não havendo um sistema de vigilância integrado para todo o país. Adicionalmente, é necessário considerar que grande parte das informações é proveniente das análises de material bruto apreendido, havendo falta de dados epidemiológicos sobre intoxicações associadas ao uso de NPS. Informações significativas são provenientes de artigos científicos e trabalhos realizados por grupos de pesquisa nas universidades em parceria com laboratórios da polícia científica e institutos de perícia de cada estado (CUNHA, DE SANTANA e OLIVEIRA, 2017; MACHADO *et al.*, 2019; DE SOUZA BOFF *et al.*, 2020). Segundo o relatório de atividades do Grupo de Trabalho para Classificação de Substâncias Controladas da Agência Nacional de Vigilâncias Sanitária (ANVISA), nos anos de 2017 e 2018, nove estados reportaram registros de NPS, sendo eles: Acre, Bahia, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Pernambuco, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul. Nesse período, foram detectadas cinco substâncias do tipo fenciclidina, cinco canabinoides sintéticos, cinco triptaminas, 25 fenetilaminas, 24 catinonas sintéticas e cinco compostos pertencentes ao grupo de outras substâncias (ANVISA, 2019).

No ano de 2018, 929 laudos com 1013 entradas de NPS foram registrados pela Polícia Federal do Brasil (PF). Ao todo, foram 43 substâncias distintas registradas, sendo 16 delas reportadas pela primeira vez (quatro fenetilaminas, 11 catinonas sintéticas e um canabinoide sintético). Estes dados representam um aumento de aproximadamente três vezes em relação ao ano anterior onde foram realizadas apenas 372 entradas. Em 2017, as drogas sintéticas representavam apenas 7% do total de apreensões pela PF, porém este número em 2018 aumentou para 19%. Dentro das drogas sintéticas, 69,7% são drogas clássicas, enquanto 18,1% são catinonas sintéticas e 4,2% são fenetilaminas, representando os grupos com maiores apreensões. A substância mais apreendida foi o MDMA com 587 laudos, seguido de *N*-etilpentilona com 158 laudos, MDA com 81 laudos, LSD com 33 laudos e 25I-NBOH com 25 laudos. Levando em consideração somente as NPS, as catinonas sintéticas representam 66,8% das apreensões, o que condiz com um aumento em comparação aos anos anteriores onde representavam 45,5% e 17,2% em 2017 e 2016, respectivamente. Entre as catinonas, o maior

destaque é dado à N-etilpentilona que representa 69% do total da classe, com apreensão de 5776 comprimidos e 74,7 kg de cristais ou pó no ano de 2018, comparado com 816 comprimidos e 29,5 kg de matéria prima em 2017. As fenetilaminas ocupam o segundo lugar com 15,7% das apreensões, uma queda em relação aos anos anterior onde foram de 26,5% e 42,4% em 2017 e 2016, respectivamente. Este número representa a apreensão de 116.888 selos e 83,7 g de produto sólido, sendo o maior representante da classe o 25I-NBOH (43,6% do total, ou 86.401 selos e 51 g de pó ou cristais), seguido pelas apreensões de 25I-NBOME e 2C-B. Por fim, as misturas entram em terceiro lugar na ordem de apreensões (10,9%), seguidas pelos canabinoides sintéticos (2,2%) e compostos das classes da fenciclidina, triptaminas e outros. As substâncias classificadas como de origem vegetal, aminoindanos e piperazinas não apresentam nenhum registro (BRASIL, 2019). De maneira geral, é possível observar no país uma preferência pela utilização de substâncias estimulantes e alucinógenas, como catinonas e fenetilaminas, seguindo o padrão encontrado para países latino-americanos.

O controle deste tipo de substâncias por parte de órgãos governamentais se apresenta como um grande desafio. Em diversos países a forma de controle se dá pela utilização de um sistema de listagem individual de substâncias consideradas proscritas, dentre elas as substâncias psicoativas. Esse sistema lista os compostos por nome, o que se torna difícil no caso das NPS pelo grande número de substâncias e o rápido surgimento de novos compostos, o que demanda constante atualização destes documentos. Devido a essas dificuldades, muitos países vêm adotando sistemas de classificação análoga ou genérica como alternativas para manter o maior número de NPS sob legislação. A classificação análoga inclui substâncias que apresentam estrutura química e efeito similar a uma substância precursora previamente controlada. Enquanto isso, a classificação genérica regula grupos de substâncias que possuem similaridades químicas como um mesmo núcleo estrutural e seus possíveis substituintes em posições determinadas da molécula. Sendo assim, essa classificação tem por objetivo proibir modificações na molécula que ainda não existem, em uma tentativa da legislação estar à frente da síntese e distribuição de novos compostos (KING *et al.*, 2011; VAN AMSTERDAM, NUTT e VAN DEN BRINK, 2013).

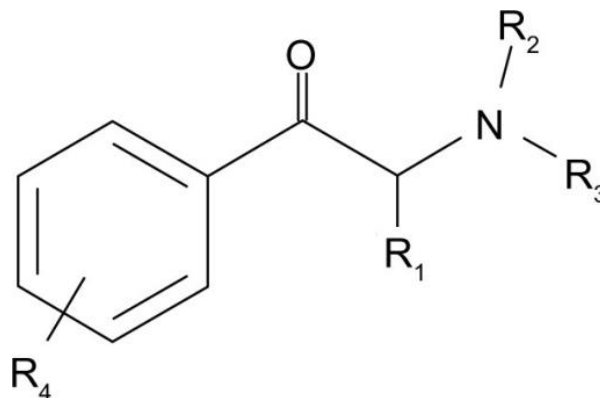
No Brasil, as NPS são controladas nominalmente pela Portaria 344 de 12 de maio de 1998, decreto que regulamenta as substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial, cujo conteúdo é atualizado periodicamente pela ANVISA. Estes compostos se enquadram na Lista F, que contempla as substâncias de uso proscrito no país, divididas em entorpecentes, psicotrópicos e outras substâncias (BRASIL, 1998). Em 2016, a ANVISA adotou o controle genérico por classes estruturais para os canabinoides sintéticos por meio da RDC nº 79 de 23

de maio de 2016 (ANVISA, 2016). Este controle foi estendido em 2017 para a classe das catinonas sintéticas por meio da RDC nº 175 de 19 de setembro de 2017 (ANVISA, 2017).

### 1.1.1 Catinonas sintéticas

As catinonas sintéticas são produtos derivados do composto catinona, encontrado na planta *Catha edulis* (família das Celastraceae), originária e presente em países da África e península arábica. Nestes países a prática de mascar folhas da planta com intuito de alcançar seus efeitos estimulantes é comum, com destaque para seu uso em cerimônias culturais e religiosas (VALENTE *et al.*, 2014). A catinona, isômero S, foi isolada da planta pela primeira vez em 1970 levando à descoberta de seu potencial psicoativo. Nesta época, o uso terapêutico de análogos da catinona foi explorado, incluindo a síntese de vários fármacos, dentre eles a dietilpropiona e a pirovalerona, utilizadas como anorexígenos, e a bupropiona, utilizada para o tratamento da depressão e do tabagismo. A primeira catinona sintética a ser conhecida reportada para o uso recreacional foi a metcatinona, com relatos de consumo na década de 1980 na Rússia e 1990 nos Estados Unidos (BAUMANN *et al.*, 2018).

Quimicamente, as catinonas são derivadas das fenilalquilaminas, sendo sua estrutura muito similar à molécula de anfetamina, diferindo pela adição de um grupo carbonila ao carbono da posição beta da cadeia lateral. Devido a essa modificação, a catinona é comumente referida como beta-cetoanfetamina. Com relação à molécula de catinona, ela é passível de modificações em quatro principais radicais, conforme indicado na Figura 1. A primeira região explorada para síntese de novos compostos foi a modificação do anel aromático (R4) com adição de grupos alquila e halogênios, resultando em compostos como por exemplo, a metcatinona, pentedrona e mefedrona. Adicionalmente, houve a adição de grupamento metilenodioxí ao anel aromático, resultando em compostos muito similares ao MDMA, como por exemplo a pentilona, butilona e etilona. Outra região constantemente explorada da molécula é a substituição no átomo de nitrogênio (R2 e R3), usualmente por um grupamento pirrolidina, como no caso da  $\alpha$ -PPP e  $\alpha$ -PVP. Além disso, pode ocorrer adição de grupamentos na posição do carbono alfa (R1) (LEFFLER *et al.*, 2014; GONÇALVES *et al.*, 2019; PIEPRZYCA *et al.*, 2020).

**Figura 1** - Molécula base para a síntese das catinonas sintéticas

Fonte: PAILLET-LOILIER *et al.*, 2014.

As catinonas sintéticas são comumente vendidas na forma de cristais ou pós amorfos de cor branca a marrom e, em alguns casos podem ser encontrados na forma de comprimidos ou cápsulas em substituição ao MDMA. Usualmente, são comercializadas em embalagens que podem conter uma ou mais catinonas, além de possíveis misturas com outras NPS, drogas de abuso clássicas e substâncias lícitas como a cafeína. Entre as inscrições utilizadas nas embalagens, destacam-se as seguintes: “sais de banho”, “fertilizantes”, “não recomendado para consumo humano” e “*legal highs*” (COPOLLA e MONDOLA, 2012; FAN *et al.*, 2020). As principais vias de administração dessas substâncias são a oral e a intranasal, podendo também serem administradas pela via intravenosa em função de sua hidrossolubilidade, através da solubilização dos pós ou cristais (PIEPRYZCA *et al.*, 2020). Entre os efeitos desejados estão euforia, estado de alerta, sociabilidade e aumento de habilidades comunicativas, aumento de foco, aumento de libido e sensação de bem-estar geral e ocorrem decorridos 30 a 45 minutos da administração, com o pico de efeito após passadas 1 a 3 horas. Entretanto, efeitos adversos associados podem ter implicações por várias horas até dias (MARINETTI e ANTONIDES, 2013).

Os efeitos adversos associados ao uso de catinonas sintéticas podem ser divididos de acordo com o sistema atingido, sendo estes: efeitos cardiovasculares como palpitações, taquicardia e dor no peito; gastrointestinais como dor abdominal, anorexia, náuseas e vômitos; musculares como dormência, câimbras e tensão muscular; neurológicos como agressividade, tonturas, dor de cabeça, convulsões e perda de memória; oftalmológicos como visão embaçada e midríase; pulmonares como dispneia; psicológicos como ansiedade, pânico, paranoia, alucinações visuais e auditivas, depressão e tendência suicida; efeitos gerais como febre, hipertermia, sudorese, hiponatremia, hipercalemia, acidose metabólica e anemia. Além disso,

quadros de intoxicação aguda podem levar a comprometimentos severos como dano renal agudo e falência renal aguda, além de rabdomiólise (PROSSER e NELSON, 2012; ZAWILSKA e WOJCIESZAK, 2013; VALENTE *et al.*, 2014).

É importante destacar que a ocorrência e a potência, tanto de efeitos desejados, quanto efeitos adversos é dependente das modificações estruturais realizadas nas moléculas da catinona, alterando parâmetros químicos que irão modular a toxicocinética e toxicodinâmica dessas moléculas. Como mencionado, as catinonas possuem grande semelhança química com a molécula de anfetamina, conseqüentemente irão apresentar mecanismo de ação similar pelo estímulo do SNC através do aumento das catecolaminas, sendo que as interações podem ocorrer com receptores de dopamina, noradrenalina e serotonina (RILEY *et al.*, 2019). Referente às modificações nos radicais, catinonas com substituintes no anel aromático (R4) possuem uma tendência de se comportarem como substratos para transportadores de catecolaminas. Isso significa que as catinonas são translocadas para o interior do neurônio pré-sináptico, promovendo o aumento do influxo de íons de cálcio ( $Ca^{2+}$ ) o que leva a depleção das reservas de neurotransmissores armazenados nas vesículas. Adicionalmente, catinonas que possuem modificações no nitrogênio (R2 e R3) têm tendência de agirem como bloqueadores de recaptação de catecolaminas. Nesse mecanismo, há um aumento de neurotransmissores na fenda sináptica pelo impedimento de seu aporte ao neurônio pré-sináptico (BAUMANN *et al.*, 2018). A afinidade das catinonas sintéticas com receptores de dopamina, serotonina e noradrenalina também é objeto de estudo, sendo que as substâncias com maior ação em vias dopaminérgicas e noradrenérgicas possuem maior potencial de abuso, o inverso do que ocorre com aquelas que ativam vias serotoninérgicas (SIMMLER *et al.*, 2013). Entretanto, dados sobre mecanismo de ação das catinonas sintéticas, principalmente as que entraram recentemente no mercado, são escassos. Além disso, é necessário ter cautela ao fazer generalizações sobre o comportamento de grupos de substâncias, visto que o número de substituintes passíveis de serem adicionados é alto e o impacto de muitos deles na toxicodinâmica das moléculas ainda não é conhecido.

Além das mudanças relatadas nos mecanismos de ação, os processos de distribuição, biotransformação e excreção podem ser influenciados pelas modificações das moléculas. Nesse sentido, o principal parâmetro a ser avaliado é a polaridade da molécula, o que irá influenciar a capacidade do composto de cruzar a barreira hemato-encefálica (BHE) e a toxicidade dos produtos de biotransformação formados (COUTO *et al.*, 2018). Por exemplo, a adição da função cetona confere maior polaridade às catinonas, quando comparado com a molécula de anfetamina, o que implica em uma menor afinidade para cruzar a BHE. O aumento da cadeia

carbônica em R1 é relacionado a um aumento da lipofilicidade e aumento dos parâmetros toxicocinéticos plasmáticos, assim como a adição da pirrolidina nos radicais R2 e R3 (GRECCO *et al.*, 2017; BAUMANN *et al.*, 2018; CALINSKI, KISOR e SPRAGUE, 2019). No entanto, apesar dessas particularidades, algumas vias de biotransformação são comuns para diversas catinonas sintéticas. Reações de fase I incluem N-desalquilação da amina primária e redução da função cetona para um grupo hidroxila. Compostos com grupos alquila como substituintes no anel aromático (R4) podem sofrer reações de hidroxilação ou oxidação, enquanto aqueles com adição de grupamento metilenodioxí passam por reações de desmetilação seguido de O-metilação. O anel pirrolidina presente em diversas catinonas sintéticas irá passar por reações de desaminação oxidativa, formação de lactama e degradação do anel pela abertura e oxidação a ácido carboxílico. Reações de fase II podem incluir conjugação com ácido glicurônico e sulfatos (ELLEFSEN, CONCHEIRO e HUESTIS, 2016; GONÇALVES *et al.*, 2019). Contudo, há a necessidade de mais estudos nesta área para elucidação de vias específicas, visto que a investigação dos processos toxicocinéticos pelos quais as catinonas sintéticas são submetidas são de suma importância para o entendimento de seus efeitos e para a sua determinação analítica.

## 1.2 Técnicas analíticas para a determinação de NPS

A determinação das NPS representa um grande desafio na análise de rotina nas perícias laboratoriais, podendo ser realizada por diversas técnicas analíticas com diferentes graus de complexidade. No entanto, um dos problemas enfrentados é a disponibilidade e aporte financeiro a padrões analíticos para o desenvolvimento de metodologias confiáveis de detecção e quantificação (ARCHER, TREBLE e WILLIAMS, 2011). Essa situação é mais frequente em laboratórios de pequeno porte e em países em desenvolvimento, o que resulta em subnotificação de casos e um enfraquecimento da legislação acerca destas substâncias, quando comparado a países que possuem um sistema de vigilância completo.

Os imunoenaios usualmente utilizados para triagem de drogas de abuso representam uma das grandes lacunas da detecção de NPS pela falta de especificidade das metodologias. Por exemplo, as catinonas apresentam certa reatividade cruzada com testes comercialmente disponíveis. A principal dificuldade para a otimização da aplicabilidade destes testes é o desenvolvimento de anticorpos monoclonais específicos, cuja produção é lenta, cara e requer equipe altamente especializada (ELLEFSEN, CONCHEIRO e HUESTIS, 2016; COUTO *et al.*,

2018). Também podem ser empregadas metodologias baseadas em espectroscopia Raman, espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN) e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR), que são frequentemente utilizadas como complementos para a elucidação estrutural das NPS (CHRISTIE *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2017; APIRAKKAN *et al.*, 2018).

Contudo, grande parte das metodologias desenvolvidas apoiam-se no uso de equipamentos sofisticados como os espectrômetros de massas, que não estão presentes em uma grande proporção de laboratórios. Entretanto, esses equipamentos são capazes de fornecer a sensibilidade e especificidade necessárias, sendo considerados o padrão ouro para determinação de drogas de abuso (BORDEN *et al.*, 2020a). Usualmente, a espectrometria de massas (MS) é associada à cromatografia gasosa (GC) ou líquida (LC) para determinação das NPS. Outra grande aplicação da espectrometria de massas é o seu uso na caracterização estrutural de novos compostos e também de seus produtos de biotransformação obtidos através de estudos de toxicocinética *in vitro* e *in vivo*. Nesses casos, destaca-se o emprego da espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) devido a capacidade de mensuração da massa exata dos compostos e também da aquisição de dados em diferentes modos como a aquisição dependente de dados (DDA) e a aquisição independente de dados (DIA). Adicionalmente, é possível realizar a análise retrospectiva de dados quando utilizada uma metodologia *untargeted*, o que pode eliminar a necessidade de reprocessamento das amostras (PASIN *et al.*, 2017; FABREGAT-SAFONT *et al.*, 2020).

Apesar do acoplamento com GC e LC trazer inúmeras vantagens, esses processos consomem grande quantidade de tempo e recursos. Dessa forma, metodologias de análise direta que utilizam *dilute-and-shoot* ou ionização ambiente se tornaram alternativas para análises mais simples e rápidas. Métodos de ionização ambiente são aqueles que são operados à pressão atmosférica e que requerem pouco ou nenhum processo de preparo de amostra para a formação dos íons fora do MS. Eles diferem das ionizações clássicas pelo fato de não necessitarem do uso de alto vácuo ou soluções nas quais os analitos são dissolvidos para a geração dos íons. As técnicas possuem diversas configurações, podendo ser baseadas em sistemas que utilizam líquidos em forma de spray, plasma e/ou laser como agentes de ionização. Técnicas que fazem uso de spray atuam de forma semelhante à ionização por *electrospray* (ESI), e apresentam como uma das vantagens a adição de reagentes ou padrão interno ao solvente que produz o spray. Já o uso de plasma não necessita da adição de solventes, sendo que a ionização ocorre através da geração de espécies energéticas que serão responsáveis por dessorver os analitos e ionizá-los, de maneira comparável à ionização química por pressão atmosférica (APCI) (BADU-TAWIAH

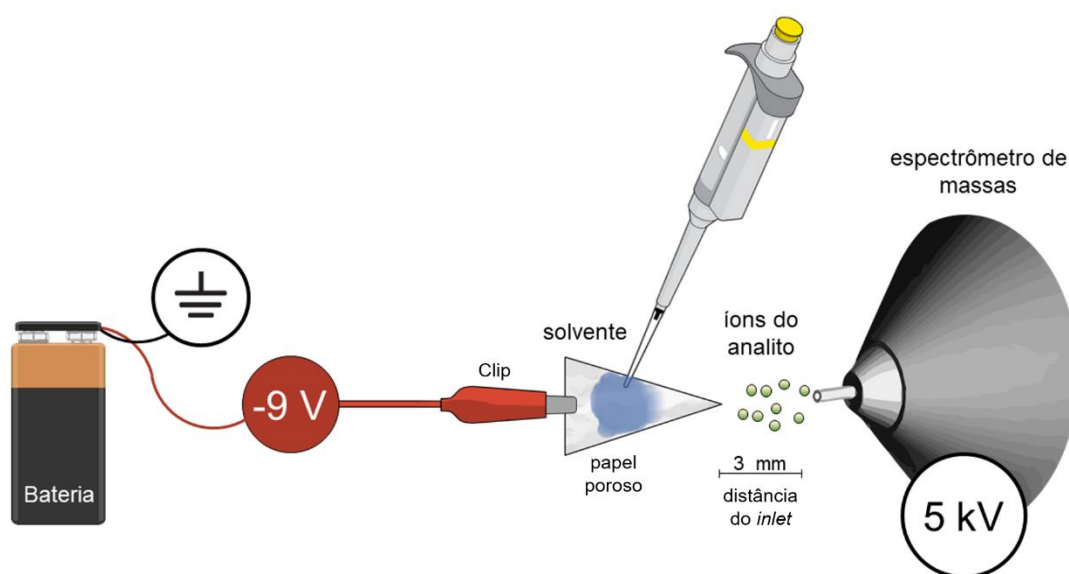
*et al.*, 2013; BORDEN *et al.*, 2020a). A primeira técnica de ionização ambiente foi desenvolvida por Takáts *et al.* (2004), sendo denominada de ionização por dessorção via *electrospray* (DESI) que é baseada em spray, seguida pela criação da análise direta em tempo real (DART) por Cody, Laramée e Durst (2005) que utiliza o plasma. Atualmente, dezenas de modificações e otimizações dessas técnicas já foram realizadas, gerando um grande portfólio de opções de sistemas de ionização ambiente, inclusive comerciais, para serem aplicados em diversos contextos analíticos. Entre esses sistemas, destaca-se a ionização por *paper spray* (PSI).

A técnica de PSI surgiu no ano de 2010 e idealizava uma metodologia que pudesse unir características da ESI com as vantagens proporcionadas pela ionização ambiente (WANG *et al.*, 2010). A escolha do papel como material de interesse para construção dessa técnica se dá pela versatilidade que ele oferece e seu histórico de uso para análises laboratoriais como a técnica de cromatografia em papel, o uso de papel em testes de glicose e gravidez, além de ser o veículo de amostragem de sangue nos chamados *dried blood spots* (DBS). Além disso, o papel é um material barato e de fácil acesso, características desejáveis para a implantação em laboratórios analíticos (LIU *et al.*, 2010).

De modo geral, na técnica de PSI o papel é utilizado como substrato para a deposição da amostra, que pode ser tanto líquida quanto sólida. Esse papel é confeccionado de forma triangular, sendo que uma ponta do triângulo é direcionada para a entrada do analisador de massas. Ao papel é aplicada uma alta voltagem através de um grampo de cobre utilizado para suporte e adicionada uma pequena quantidade de solvente, como ilustrado na Figura 2. Essa combinação será capaz de dessorver os analitos presentes na amostra, transportá-los até a ponta do papel e ionizá-los. Há a formação de gotas com superfícies carregadas, que serão dissolvidas nos microcanais presentes na matriz de celulose do papel. A diferença de potencial elétrico criado entre a voltagem aplicada e o campo elétrico do analisador de massas é responsável por ejetar os íons para dentro do equipamento. A ionização decorrente é muito similar com a ESI, onde as gotas se tornam cada vez menores devido à evaporação do solvente, consequentemente diminuindo a tensão superficial, o que implica na ocorrência de explosões coulômbicas, até que se forme o spray com apenas partículas carregadas. Quando o sistema opera em modo positivo e possui grande quantidade de solvente, usualmente são formados múltiplos sprays na forma de um cone de Taylor, devido ao “espalhamento” pelos microcanais do papel, o que configura o primeiro modo de formação do spray. A corrente total nesse modo se mantém entre 0,1 e 0,2  $\mu\text{A}$ , e a velocidade de movimento das gotas é dependente da voltagem aplicada. Já o segundo modo ocorre quando, em modo positivo, há a depleção do solvente e a corrente elétrica sobe

para cerca de  $0,8 \mu\text{A}$ , criando um único spray concomitantemente a uma descarga de corona. Especula-se que o segundo modo também ocorra em caso de operação em modo negativo, visto que a corrente elétrica aferida é usualmente maior, provavelmente pela natureza dos elétrons (LIU *et al.*, 2010; ESPY *et al.*, 2012).

**Figura 2** - Esquema de funcionamento da ionização por *paper spray*



Fonte: Adaptado de BIRK *et al.*, 2020

O controle e otimização de diversos parâmetros são tidos como de suma importância para o alcance de melhores respostas analíticas com o uso do PSI e sua avaliação pode ser realizada de forma univariada ou multivariada. Um deles é a escolha do tipo de solvente, que será relacionada diretamente com as características físico-químicas dos analitos que irão modular a eficiência da extração e a ionização. Além disso, devem ser capazes de penetrar o papel sem dissolver a matriz em excesso e formarem um spray satisfatório. Solventes com maior viscosidade tendem a produzir uma menor quantidade de sprays. A volatilidade também deve ser considerada pois é crucial na estabilidade e durabilidade do spray, visto que quanto mais volátil, menor o tempo do spray e menores as gotas formadas. O modo de aplicação do solvente, momentâneo ou contínuo, também deve ser avaliado (ESPY *et al.*, 2012; REN *et al.*, 2013; MANICKE, BILLS e ZHANG, 2016). Outro fator a ser considerado é a geometria do papel, onde para que a ionização ocorra é necessária uma ponta estreita. O ângulo da ponta é

determinante para a formação do spray e, conseqüentemente, para alcançar um maior sinal analítico, sendo que quanto menor o ângulo, maior o spray. Esta associação pode ser relacionada ao aumento da densidade do campo elétrico em pontas menores, visto que a ponta é o local que concentra maior potencial elétrico (YANG *et al.*, 2012). A distância entre o papel e a entrada do analisador de massas também pode influenciar na resposta analítica de forma significativa e pode variar especificamente para cada analito avaliado (VANDERGRIFT *et al.*, 2018).

O papel usualmente utilizado no PSI é o papel cromatográfico, porém uma das principais otimizações realizadas consiste na avaliação do tratamento do papel através de lavagens com diversas soluções ou modificações no substrato. Por exemplo, a imersão do papel em ácido nítrico ou solução de hipoclorito de sódio se mostrou capaz de reduzir o efeito matriz de amostras biológicas (SU *et al.*, 2013). Em relação a modificações no papel, cobertura com sílica foi avaliada na análise de DBS, o que acarretou em um aumento de recuperação dos analitos e sensibilidade na ordem de 5 a 50 vezes, sendo aplicável para o cenário de monitoramento terapêutico dos fármacos avaliados no estudo (ZHANG *et al.*, 2012). Outra alternativa explorada é o uso de papel com características hidrofóbicas, que pode ser produzido pela adição de uma camada de silano ou impressão com cera. Essa modificação é capaz de criar canais microfluídicos no papel, que podem promover uma ionização mais eficiente e menores limites de detecção (DAMON *et al.*, 2016a; DAMON *et al.*, 2016b). No trabalho de Basuri, Baidya e Pradeep (2019), papel com uma cobertura super-hidrofóbica foi utilizado como uma ferramenta de pré-concentração. Uma pequena área do papel foi selecionada e sua cobertura retirada. A amostra foi então adicionada a esse ponto específico e ficou contida nesse espaço, sendo o solvente evaporado e o processo repetido por cerca de 5 vezes. Esses procedimentos permitiram a concentração de uma grande quantidade de analitos, possibilitando a detecção a nível de femtogramas. O uso de nanotubos de carbono também é uma alternativa, já que possibilita o uso de baixa voltagem para a ionização. Os nanotubos são estruturas condutivas que formam protuberâncias na superfície do papel, e essas agem como eletrodos sendo responsáveis pela geração de um alto campo elétrico. Devido a esse campo elétrico, ocorre a emissão de micro gotas carregadas da solução contendo o analito nas protuberâncias. Nesse caso, o uso da baixa voltagem é suficiente para induzir a formação do campo elétrico, produzindo uma ionização mais branda (NARAYANAN *et al.*, 2014). Em outra aplicação, papel com cobertura de nanopartículas plasmônicas foi utilizado com o intuito de servir como substrato em comum para análises com PSI-MS e espectroscopia Raman amplificada por superfície. A vantagem está na complementação de metodologias para diferenciação de moléculas como os isótopos utilizando

o mesmo objeto de análise (BURR *et al.*, 2020). As modificações realizadas ao papel também podem objetivar a superação de dificuldades intrínsecas aos analitos. Bills e Manicke (2020) demonstraram que a adição de óleo de gergelim ao papel é capaz de aumentar a estabilidade do THC, molécula que está sujeita a ampla degradação térmica e fotoquímica.

Com a disseminação e aprimoramento do uso do PSI, outras técnicas similares que dispensam o uso do papel se tornaram populares, e geralmente são desenvolvidas com o intuito de melhorar a sensibilidade e a especificidade das metodologias. A mais conhecida delas é a *Coated Blade Spray* (CBS) que utiliza como superfície uma folha de aço inoxidável recoberta por partículas poliméricas adsorventes. Essa configuração permite vantagens como melhor condutividade elétrica, melhor definição da ponta que permite melhor direcionamento dos íons e menor risco de deformidade quando utilizados grandes volumes de amostra ou solvente. Além disso, o dispositivo funciona como uma ferramenta de extração da amostra, já que é recoberto com materiais adsorventes, que podem ser otimizados para seleção de compostos específicos. Essa propriedade aliada à grande superfície disponível para extração promove altos fatores de pré-concentração, o que permite atingir limites de detecção e quantificação menores (GÓMEZ-RÍOS e PAWLISZYN, 2014). Entre outras técnicas pode-se citar o uso de Teflon (NARAYANAN *et al.*, 2019), madeira (HU *et al.*, 2011), folhas (LIU *et al.*, 2011) e vidro (DHUMMAKUPT *et al.*, 2017) como superfícies que já foram estudadas e podem ser implementadas em aplicações específicas.

Entre as vantagens propostas pela técnica de PSI se destaca a alta frequência analítica. Isso se deve ao fato que a ionização e consequente ejeção dos íons e leitura pelo MS acontece em apenas segundos a minutos. Adicionalmente, a técnica utiliza baixos volumes de amostra e de solventes e elimina o uso de consumíveis necessários para LC e GC, o que reduz a geração de resíduos e o custo agregado das análises. Outro fato a ser considerado é a simplicidade da técnica, que pode ser desenvolvida em poucos passos e com o mínimo de manipulação de amostra, o que implica na diminuição de erros associados ao operador. Como cada mensuração é realizada em um pedaço de papel diferente, não há risco de contaminação cruzada entre as amostras. Já que a técnica não necessita de gás de nebulização na ionização, o PSI é compatível com o acoplamento a espectrômetros de massas portáteis que podem ser utilizados nas mais diversas análises de campo. Além disso, a ionização é considerada não-destrutiva, o que permite a reanálise das amostras caso necessário (FREY, DAMON e BADU-TAWIAH, 2020; LINHARES e YONAMINE, 2020).

Entre as desvantagens da técnica pode-se citar os problemas com seletividade e efeito matriz devido à análise direta da amostra, o que pode afetar o desenvolvimento de metodologias

quantitativas principalmente em matrizes complexas. Contudo, a otimização dos parâmetros do método, assim como a inclusão de uma etapa de pré-tratamento e/ou preparo de amostra podem minimizar esses efeitos. Também é necessário considerar a falta de padronização dos dispositivos utilizados na ionização por PSI, o que pode acarretar em problemas de reprodutibilidade. A grande maioria dos dispositivos utilizados são construídos “*in house*” (MCBRIDE *et al.*, 2019; LINHARES e YONAMINE, 2020). No entanto, dispositivos comerciais já estão disponíveis no mercado.

Através dessas técnicas, uma alta gama de matrizes biológicas e não-biológicas já foi utilizada na detecção e quantificação das NPS. Entre as amostras biológicas se destacam o uso das matrizes clássicas como sangue (GLICKSBERG, BRYAND e KERRIGAN, 2016; MERCIERCA *et al.*, 2018; LAU, CONCHEIRO e COOPER, 2020), urina (GLICKSBERG, BRYAND e KERRIGAN, 2016; MERCIERCA *et al.*, 2018; FAN *et al.*, 2020), fluido oral (WILLIAMS, MARTIN e GALETTIS, 2017; DA CUNHA *et al.*, 2020; PASCUAL-CARO *et al.*, 2020) e cabelo (BOUMBA *et al.*, 2017; FRENI *et al.*, 2019). Já entre as não-biológicas pode-se citar a análise de águas para estudos de mapeamento de consumo (BADE *et al.*, 2020; FU *et al.*, 2020) e principalmente a análise de material apreendido como pós, cristais, comprimidos e selos (ODOARDI, ROMOLO e STRANO-ROSSI, 2016; MACHADO *et al.*, 2019; DE SOUZA BOFF *et al.*, 2020; DE SOUZA JÚNIOR *et al.*, 2020).

Considerações específicas devem ser abordadas em relação a análises de material biológico. A primeira é a baixa concentração dos analitos nestas matrizes, visto que doses pequenas são administradas em função da alta potência dos compostos, o que implica na necessidade de instrumentação analítica de alta sensibilidade (DA CUNHA *et al.*, 2020). A segunda, é o desconhecimento das rotas de biotransformação da maioria das NPS e consequentemente da existência ou não de produtos de biotransformação que poderiam ser utilizados como marcadores do consumo, o que reforça a necessidade de estudos para a elucidação desses mecanismos (PETERS e MEYER, 2011). Adicionalmente, as concentrações atribuídas às doses também são desconhecidas, assim como a biodisponibilidade dos compostos no organismo e os efeitos e toxicidade atribuídos a uma dose. Também é descrita a falta de avaliação de parâmetros de estabilidade como temperatura e tempo de armazenamento, adição de conservantes e exposição a luz para a maioria dos compostos e as possíveis alterações causadas (SOH e ELLIOT, 2013; GEROSTAMOULOS *et al.*, 2016).

Além disso, geralmente há a necessidade de uma etapa de preparo de amostra devido a composição complexa dessas matrizes. Essa é uma etapa crítica do processo de análise que visa concentrar os analitos, que estão dispersos na matriz em baixas quantidades, e remover os

interferentes exógenos e endógenos, tornando o extrato compatível com os instrumentos analíticos. De modo geral para todas as NPS, a maioria das metodologias apoia-se no uso de técnicas clássicas de preparo como a extração líquido-líquido (LLE) e a extração em fase sólida (SPE). No entanto, há um aumento do desenvolvimento de técnicas de microextração devido a suas características alinhadas com os princípios da química verde, onde são consumidos menores volumes de solventes e amostra, e menor quantidade de sorbentes. Além disso, as extrações são realizadas em menor tempo e algumas possuem capacidade de automatização. Como consequência, o processo gera uma menor quantidade de resíduos, apresenta uma menor exposição do operador a compostos potencialmente prejudiciais à saúde e promove um menor comprometimento financeiro para o laboratório (OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2016; ESTEVE-TURILLAS, ARMENTA e DE LA GUARDIA, 2020).

As técnicas de microextração podem ser classificadas como baseadas em fase líquida ou fase sólida. Entre as rotuladas como baseada em fase líquida, a configuração mais explorada para determinação de NPS é a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), tendo sido aplicada com sucesso em métodos de análise de sangue total (ODOARDI *et al.*, 2015), fluido oral (FERNÁNDEZ *et al.*, 2019) e extratos de cabelo (VINCENTI *et al.*, 2019). A DLLME funciona através da rápida adição de uma mistura de solvente extrator e um solvente dispersor à amostra líquida, o que leva à formação de uma solução turva composta pelas microgotas do solvente. Essa solução é posteriormente centrifugada, levando a deposição do solvente extrator no fundo do tubo, que será o extrato coletado e injetado no equipamento analítico (REZAEI *et al.*, 2006). Entre as técnicas que empregam fase sólida, destaca-se o uso da microextração por sorbente empacotado (MEPS) para a detecção e quantificação das NPS. Na MEPS, os ciclos da extração (condicionamento, carregamento da amostra, lavagem e eluição) ocorrem em uma seringa que possui o sorbente empacotado acondicionado em seu interior ou junto à agulha. A interação entre o sorbente e os analitos irá determinar a eficiência da extração, assim como na SPE (ADBEL-REHIM, 2004). Métodos para a determinação de NPS por MEPS em plasma (FERNÁNDEZ *et al.*, 2017) e fluido oral (ARES *et al.*, 2017; ROCCHI *et al.*, 2018) já estão descritos na literatura. Estes e outros dados referentes a microextrações para determinação de NPS em amostras biológicas foram compilados pela autora para o artigo de revisão intitulado “*Determinations of new psychoactive substances in biological matrices with focus on microextraction techniques: a review of fundamentals and state-of-the-art extraction methods*”, submetido e aceito para publicação na revista *Forensic Toxicology* (BIRK *et al.*, 2021).

Por todas as dificuldades mencionadas, o uso de ionizações ambiente ainda não é muito explorado para a análise de NPS em matrizes complexas, no entanto alguns métodos já são

descritos na literatura. O método criado por LaPointe *et al.* (2015) utiliza microextração em fase sólida (SPME) seguido por análise por DART-MS para determinação de catinonas e produtos de biotransformação em urina. A adição da etapa de preparo de amostra promoveu um espectro de massas mais limpo e foi capaz de aumentar a detectabilidade em 5 a 60 vezes, dependendo do analito e sorbente utilizado, quando comparada a abundância de íons. Contudo, um tempo de 1 hora e 30 minutos foi acrescentado à análise, o que deve ser considerado na relação custo-benefício para a adoção dessa metodologia. Considerando a técnica de PSI-MS, uma metodologia foi desenvolvida para a quantificação de análogos de fentanil em urina. As curvas de calibração foram construídas no range de 0,5 a 50 ng/mL para 7 compostos, avaliando também precisão e exatidão. O método foi aplicado a 40 amostras de urina e os resultados comparados com o método tradicional de LC-MS, tendo bons resultados de concordância (KENNEDY *et al.*, 2018). A respeito das catinonas, o estudo desenvolvido por Czerwinska *et al.* (2020) utilizou PSI-MS para a análise de impressões digitais de indivíduos que haviam consumido mefedrona. O método foi validado para a determinação de mefedrona e seu produto de biotransformação, dihidro-mefedrona. Quando aplicado às amostras reais, somente a mefedrona foi detectada com o uso do PS-MS. No trabalho conduzido por McKenna *et al.* (2018), PSI-MS/MS foi utilizado como triagem para mais de 140 compostos, incluindo catinonas e outras NPS, em sangue. Foram construídos dois métodos, um para avaliação no modo positivo e outro no modo negativo. A aplicabilidade do método desenvolvido para o modo positivo foi avaliada através da análise de 30 amostras reais de sangue post-mortem, que passaram por análise confirmatória em LC-MS/MS. A taxa de verdadeiros-positivos encontrada para o método foi de 92,1%, enquanto a de verdadeiros-negativos foi de 99,8%, reforçando o potencial da técnica para aplicação neste cenário.

Para a análise de drogas em forma bruta, os métodos criados e o preparo dessas amostras costumam ser mais simples. A maioria dos estudos utilizam a solubilização do material em solvente orgânico, como metanol, acetato de etila, clorofórmio, entre outros. Selos, pós, cristais e misturas de ervas podem ser diretamente solubilizados, enquanto comprimidos necessitam de um processo de pulverização. Em casos específicos, o pH da solução pode ser ajustado conforme as características físico-químicas dos analitos, para alcançar melhor seletividade e eficiência (STRANO ROSSI *et al.*, 2014; MACHADO *et al.*, 2019; DE SOUZA BOFF *et al.*, 2020).

Para esse tipo de amostra que usualmente não necessita de um preparo de amostra elaborado, as ionizações ambiente são uma alternativa mais viável. Estudos iniciais utilizando DART acoplado ao analisador por tempo de voo mostram a capacidade da técnica em identificar

diversas catinonas sintéticas contidas em misturas, e diferenciá-las entre si e de seus possíveis adulterantes. Essas análises levaram em consideração a massa exata dos íons precursores e produtos, e se apresentam como uma alternativa para o *screening* das catinonas. No entanto, as análises não foram realizadas em amostras reais, o que dificulta a mensuração de possíveis interferentes contidos nas matrizes de interesse (LESIAK *et al.*, 2013; MUSAH *et al.*, 2014). No estudo conduzido por Vircks e Mulligan (2012), pós de “sais de banho” apreendidos foram analisados por DESI-MS. Fita adesiva foi utilizada como superfície de deposição de uma alíquota de 1 mg de pó e diversas catinonas foram identificadas através de comparação com os sinais obtidos para os padrões analíticos.

No estudo conduzido por Carvalho *et al.* (2016), selos contendo fenetilaminas foram analisados através de PSI com experimentos utilizando MS/MS. A caracterização das moléculas foi realizada através da avaliação de íons produtos e os resultados foram confirmados através de técnicas de alta resolução. Uma metodologia para análise quantitativa de comprimidos contendo análogos de fentanil por PSI-MS foi desenvolvida validada para os parâmetros de limites de detecção e quantificação, linearidade, precisão e exatidão, obtendo resultados satisfatórios. O método se mostrou suficientemente sensível para quantificar os compostos abaixo de suas concentrações letais (BORDEN *et al.*, 2020b). No trabalho conduzido por Kennedy *et al.* (2016), amostras de misturas de ervas e pós foram avaliados por PSI-HRMS. Diversas NPS foram detectadas, incluindo catinonas, fenetilaminas e, em sua maioria, canabinoides sintéticos.

Assim, torna-se relevante o desenvolvimento de uma nova metodologia analítica que seja rápida, robusta, sensível, de baixo custo e com pouca geração de resíduos ao ambiente, capaz de detectar diferentes NPS, a fim de aprimorar a avaliação da distribuição destes compostos. Diante do exposto, a proposta apresentada neste trabalho foi construir um sistema de PSI acoplado a HRMS que possa ser utilizado como método de determinação de catinonas sintéticas em amostras de selos apreendidas pelo Departamento de Perícias Laboratoriais do Instituto Geral de Perícias do Rio Grande do Sul (IGP-RS).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Desenvolvimento de um método analítico inovador para a determinação de cationas sintéticas em amostras de selos através de ionização *paper spray* acoplada à espectrometria de massas de alta resolução.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver um dispositivo para possibilitar a ionização por *paper spray* utilizando baixa voltagem.
- Desenvolver um método de espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) e otimizar as condições para a identificação de cationas sintéticas.
- Otimizar as condições da ionização por *paper spray* para a análise de selos.
- Avaliar a presença das cationas sintéticas em amostras de selos apreendidas pelo Departamento de Perícias Laboratoriais do Instituto Geral de Perícias do Rio Grande do Sul (IGP-RS).

### 3 REFERÊNCIAS

ABDEL-REHIM, Mohamed. New trend in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications: I. Determination of local anaesthetics in human plasma samples using gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 801, n. 2, p. 317-321, 2004.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **Relatório de Atividades 2017/2018 Grupo de Trabalho para Classificação de Substâncias Controladas**. Brasília, 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **Resolução – RDC nº 79, de 23 de Maio de 2016**.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **Resolução – RDC nº 175, de 15 de Setembro de 2017**.

APIRAKKAN, Orapan *et al.* Analytical characterization of three cathinone derivatives, 4-MPD, 4F-PHP and bk-EPDP, purchased as bulk powder from online vendors. **Drug testing and analysis**, v. 10, n. 2, p. 372-378, 2018.

ARCHER, Roland P.; TREBLE, Ric; WILLIAMS, Keith. Reference materials for new psychoactive substances. **Drug testing and analysis**, v. 3, n. 7-8, p. 505-514, 2011.

ARES, A. M. *et al.* A fast bioanalytical method based on microextraction by packed sorbent and UPLC–MS/MS for determining new psychoactive substances in oral fluid. **Talanta**, v. 174, p. 454-461, 2017.

BADE, Richard *et al.* Determining changes in new psychoactive substance use in Australia by wastewater analysis. **Science of the Total Environment**, v. 731, p. 139209, 2020.

BADU-TAWIAH, Abraham K. *et al.* Chemical aspects of the extractive methods of ambient ionization mass spectrometry. **Annual review of physical chemistry**, v. 64, p. 481-505, 2013.

BASURI, Pallab; BAIDYA, Avijit; PRADEEP, Thalappil. Sub-Parts-per-Trillion Level Detection of Analytes by Superhydrophobic Preconcentration Paper Spray Ionization Mass Spectrometry (SHPPSI MS). **Analytical chemistry**, v. 91, n. 11, p. 7118-7124, 2019.

BAUMANN, Michael H. *et al.* Neuropharmacology of synthetic cathinones. In: **New Psychoactive Substances**. Springer, Cham, 2018. p. 113-142.

BIRK, Leticia. *et al.* Determinations of new psychoactive substances in biological matrices with focus on microextraction techniques: a review of fundamentals and state-of-the-art extraction methods. **Forensic Toxicology**, FOTO-D-21-00011, 2021.

BIRK, Leticia. *et al.* A low-voltage paper spray ionization QTOF-MS method for the qualitative analysis of NPS in street drug blotter samples. **Forensic Toxicology**, v. 38, p. 227–231, 2020.

BILLS, Brandon; MANICKE, Nicholas. Using sesame seed oil to preserve and preconcentrate cannabinoids for paper spray mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 31, n. 3, p. 675-684, 2020.

BORDEN, Scott A. *et al.* Mass spectrometry analysis of drugs of abuse: challenges and emerging strategies. **Mass spectrometry reviews**, v. 39, n. 5-6, p. 703-744, 2020.

BORDEN, Scott A. *et al.* Rapid and quantitative determination of fentanyl and pharmaceuticals from powdered drug samples by paper spray mass spectrometry. **Analytical Science Advances**, v. 1, n. 2, p. 97-108, 2020.

BOUMBA, Vassiliki A. *et al.* The analysis of 132 novel psychoactive substances in human hair using a single step extraction by tandem LC/MS. **Forensic science international**, v. 279, p. 192-202, 2017.

BRASIL. **Portaria nº 344, de 12 de Maio de 1998**. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. Brasília, Ministério da Saúde, 1998.

BRASIL. **Relatório de Drogas Sintéticas 2018**. Brasília, Ministério da Justiça e Segurança Pública, Polícia Federal, 2019.

BURR, Daniel S. *et al.* Integrating SERS and PSI-MS with dual purpose plasmonic paper substrates for on-site illicit drug confirmation. **Analytical chemistry**, v. 92, n. 9, p. 6676-6683, 2020.

CALINSKI, Diane M.; KISOR, David F.; SPRAGUE, Jon E. A review of the influence of functional group modifications to the core scaffold of synthetic cathinones on drug pharmacokinetics. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 3, p. 881-890, 2019.

CARVALHO, Thays C. *et al.* Qualitative analysis of designer drugs by paper spray ionisation mass spectrometry (PSI-MS). **Analytical Methods**, v. 8, n. 3, p. 614-620, 2016.

CHRISTIE, R. *et al.* Discrimination of cathinone regioisomers, sold as 'legal highs', by Raman spectroscopy. **Drug testing and analysis**, v. 6, n. 7-8, p. 651-657, 2014.

CODY, Robert B.; LARAMÉE, James A.; DURST, H. Dupont. Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions. **Analytical chemistry**, v. 77, n. 8, p. 2297-2302, 2005.

COPPOLA, M.; MONDOLA, R. Synthetic cathinones: chemistry, pharmacology and toxicology of a new class of designer drugs of abuse marketed as "bath salts" or "plant food". **Toxicology letters**, v. 211, n. 2, p. 144-149, 2012.

COUTO, Rosa AS *et al.* The analytical challenge in the determination of cathinones, key-players in the worldwide phenomenon of novel psychoactive substances. **Critical reviews in analytical chemistry**, v. 48, n. 5, p. 372-390, 2018.

CUNHA, Ricardo Leal; DE SANTANA, Márcia Maria Portela; OLIVEIRA, Celinalva da Silva Lima. Preliminary Detection of New Psychoactive Substances (NPS) in Synthetic Drugs

Seizures in the Northeast Brazil in a Period of Two Years (2014–2016). **Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics**, v. 6, n. 2, p. 247-257, 2017.

CZERWINSKA, Joanna *et al.* Detection of mephedrone and its metabolites in fingerprints from a controlled human administration study by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and paper spray-mass spectrometry. **Analyst**, v. 145, n. 8, p. 3038-3048, 2020.

DA CUNHA, Kelly Francisco *et al.* Screening of 104 new psychoactive substances (NPS) and other drugs of abuse in oral fluid by LC–MS–MS. **Journal of analytical toxicology**, v. 44, n. 7, p. 697-707, 2020.

DAMON, Deidre E. *et al.* 2D wax-printed paper substrates with extended solvent supply capabilities allow enhanced ion signal in paper spray ionization. **Analyst**, v. 141, n. 12, p. 3866-3873, 2016.

DAMON, Deidre E. *et al.* Direct biofluid analysis using hydrophobic paper spray mass spectrometry. **Analytical chemistry**, v. 88, n. 3, p. 1878-1884, 2016.

DE SOUZA BOFF, Bruna *et al.* New psychoactive substances (NPS) prevalence over LSD in blotter seized in State of Santa Catarina, Brazil: a six-year retrospective study. **Forensic science international**, v. 306, p. 110002, 2020.

DE SOUZA JÚNIOR, José Luiz *et al.* Seizures of clandestinely produced tablets in Santa Catarina, Brazil: the increase in NPS from 2011 to 2017. **Journal of forensic sciences**, v. 65, n. 3, p. 906-912, 2020.

DHUMMAKUPT, Elizabeth S. *et al.* Direct analysis of aerosolized chemical warfare simulants captured on a modified glass-based substrate by “paper-spray” ionization. **Analytical chemistry**, v. 89, n. 20, p. 10866-10872, 2017.

ELLEFSEN, Kayla N.; CONCHEIRO, Marta; HUESTIS, Marilyn A. Synthetic cathinone pharmacokinetics, analytical methods, and toxicological findings from human performance and postmortem cases. **Drug metabolism reviews**, v. 48, n. 2, p. 237-265, 2016.

ESPY, Ryan D. *et al.* Spray mechanism in paper spray ionization. **International journal of mass spectrometry**, v. 325, p. 167-171, 2012.

ESTEVE-TURRILLAS, Francesc A.; ARMENTA, Sergio; DE LA GUARDIA, Miguel. Sample preparation strategies for the determination of psychoactive substances in biological fluids. **Journal of Chromatography A**, p. 461615, 2020.

EUROPEAN MONITORING CENTRE FOR DRUGS AND DRUG ADDICTION. EMCDDA. **European Drug Report 2020: Trends and Developments**. Luxemburgo, 2020.

FABREGAT-SAFONT, David *et al.* The key role of mass spectrometry in comprehensive research on new psychoactive substances. **Journal of Mass Spectrometry**, p. e4673, 2020.

FAGIOLA, Michael; HAHN, Timothy; AVELLA, Joseph. Screening of Novel Psychoactive Substances in Postmortem Matrices by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry (LC–MS–MS). **Journal of analytical toxicology**, v. 42, n. 8, p. 562-569, 2018.

FAN, Shu-Yu *et al.* A LC-MS/MS method for determination of 73 synthetic cathinones and related metabolites in urine. **Forensic Science International**, v. 315, p. 110429, 2020.

FERNÁNDEZ, P. *et al.* Analysis of drugs of abuse in human plasma using microextraction by packed sorbents and ultra-high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1485, p. 8-19, 2017.

FERNÁNDEZ, P. *et al.* Simultaneous determination of 20 drugs of abuse in oral fluid using ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 411, n. 1, p. 193-203, 2019.

FRENI, Francesca *et al.* A multi-analyte LC-MS/MS method for screening and quantification of 16 synthetic cathinones in hair: Application to postmortem cases. **Forensic science international**, v. 298, p. 115-120, 2019.

FREY, Benjamin S.; DAMON, Deidre E.; BADU-TAWIAH, Abraham K. Emerging trends in paper spray mass spectrometry: microsampling, storage, direct analysis, and applications. **Mass spectrometry reviews**, v. 39, n. 4, p. 336-370, 2020.

FU, Yandi *et al.* Enantiomeric determination of cathinones in environmental water samples by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1626, p. 461359, 2020.

GEROSTAMOULOS, Dimitri *et al.* To measure or not to measure? That is the NPS question. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 40, n. 4, p. 318-320, 2016.

GLICKSBERG, Lindsay; BRYAND, Kelsie; KERRIGAN, Sarah. Identification and quantification of synthetic cathinones in blood and urine using liquid chromatography-quadrupole/time of flight (LC-Q/TOF) mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 1035, p. 91-103, 2016.

GÓMEZ-RÍOS, German Augusto; PAWLISZYN, Janusz. Development of coated blade spray ionization mass spectrometry for the quantitation of target analytes present in complex matrices. **Angewandte Chemie**, v. 126, n. 52, p. 14731-14735, 2014.

GONÇALVES, João L. *et al.* Synthetic cathinones: an evolving class of new psychoactive substances. **Critical reviews in toxicology**, v. 49, n. 7, p. 549-566, 2019.

GRECCO, Gregory G. *et al.* Impact of common clandestine structural modifications on synthetic cathinone “bath salt” pharmacokinetics. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 328, p. 18-24, 2017.

HU, Bin *et al.* Electrospray ionization using wooden tips. **Analytical chemistry**, v. 83, n. 21, p. 8201-8207, 2011.

INTER-AMERICAN DRUG ABUSE CONTROL COMMISSION. CICAD. **Report on Drug Use in the Americas 2019**. Washington D.C., 2019.

KENNEDY, Joseph *et al.* Rapid screening and identification of novel psychoactive substances using PaperSpray interfaced to high resolution mass spectrometry. **Clinical Mass Spectrometry**, v. 1, p. 3-10, 2016.

KENNEDY, Joseph H. *et al.* Rapid analysis of fentanyl and other novel psychoactive substances in substance use disorder patient urine using paper spray mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 32, n. 15, p. 1280-1286, 2018.

KING, Leslie A. *et al.* Analogue controls: An imperfect law. **Independent Scientific Committee on Drugs, United Kingdom Drug Policy Commission**, 2012.

KRAEMER, Michael *et al.* Death cases involving certain new psychoactive substances: a review of the literature. **Forensic science international**, v. 298, p. 186-267, 2019.

LAPOINTE, Joseph *et al.* Detection of “bath salt” synthetic cathinones and metabolites in urine via DART-MS and solid phase microextraction. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 26, n. 1, p. 159-165, 2014.

LAU, Timothy; CONCHEIRO, Marta; COOPER, Gail. Determination of 30 Synthetic Cathinones in Postmortem Blood Using LC-MS-MS. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 44, n. 7, p. 679-687, 2020.

LEFFLER, Amanda M. *et al.* The analytical investigation of synthetic street drugs containing cathinone analogs. **Forensic science international**, v. 234, p. 50-56, 2014.

LESIAK, Ashton D. *et al.* Direct analysis in real time mass spectrometry (DART-MS) of “bath salt” cathinone drug mixtures. **Analyst**, v. 138, n. 12, p. 3424-3432, 2013.

LINHARES, Ana Luiza Freitas de Assis; YONAMINE, Mauricio. Analysis of biofluids by paper spray-MS in forensic toxicology. **Bioanalysis**, v. 12, n. 15, p. 1087-1102, 2020.

LIU, Cuimei *et al.* Identification and analytical characterization of nine synthetic cathinone derivatives N-ethylhexedrone, 4-Cl-pentedrone, 4-Cl- $\alpha$ -EAPP, propylone, N-ethylnorpentylone, 6-MeO-bk-MDMA,  $\alpha$ -PiHP, 4-Cl- $\alpha$ -PHP, and 4-F- $\alpha$ -PHP. **Drug testing and analysis**, v. 9, n. 8, p. 1162-1171, 2017.

LIU, Jiangjiang *et al.* Development, characterization, and application of paper spray ionization. **Analytical chemistry**, v. 82, n. 6, p. 2463-2471, 2010.

LIU, Jiangjiang *et al.* Leaf spray: direct chemical analysis of plant material and living plants by mass spectrometry. **Analytical chemistry**, v. 83, n. 20, p. 7608-7613, 2011.

LOGAN, Barry K. *et al.* Reports of adverse events associated with use of novel psychoactive substances, 2013–2016: a review. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 41, n. 7, p. 573-610, 2017.

LUETHI, Dino; LIECHTI, Matthias E. Designer drugs: mechanism of action and adverse effects. **Archives of toxicology**, v. 94, n. 4, p. 1085-1133, 2020.

MACHADO, Yuri *et al.* Profile of new psychoactive substances (NPS) and other synthetic drugs in seized materials analysed in a Brazilian forensic laboratory. **Forensic Toxicology**, v. 37, n. 1, p. 265-271, 2019.

MANICKE, Nicholas E.; BILLS, Brandon J.; ZHANG, Chengsen. Analysis of biofluids by paper spray MS: advances and challenges. **Bioanalysis**, v. 8, n. 6, p. 589-606, 2016.

MARINETTI, Lauren J.; ANTONIDES, Heather M. Analysis of synthetic cathinones commonly found in bath salts in human performance and postmortem toxicology: method development, drug distribution and interpretation of results. **Journal of analytical toxicology**, v. 37, n. 3, p. 135-146, 2013.

MCBRIDE, Ethan M. *et al.* Paper spray ionization: applications and perspectives. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 722-730, 2019.

MCKENNA, Josiah *et al.* Toxicological drug screening using paper spray high-resolution tandem mass spectrometry (HR-MS/MS). **Journal of analytical toxicology**, v. 42, n. 5, p. 300-310, 2018.

MERCIECA, Gilbert *et al.* Rapid and simple procedure for the determination of cathinones, amphetamine-like stimulants and other new psychoactive substances in blood and urine by GC-MS. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 149, p. 494-501, 2018.

MUSAH, Rabi A. *et al.* DART-MS in-source collision induced dissociation and high mass accuracy for new psychoactive substance determinations. **Forensic science international**, v. 244, p. 42-49, 2014.

NARAYANAN, Rahul *et al.* Molecular ionization from carbon nanotube paper. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 53, n. 23, p. 5936-5940, 2014.

NARAYANAN, Rahul *et al.* Teflon spray ionization mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 31, n. 2, p. 234-239, 2020.

OCAÑA-GONZÁLEZ, Juan Antonio *et al.* New developments in microextraction techniques in bioanalysis. A review. **Analytica chimica acta**, v. 905, p. 8-23, 2016.

ODOARDI, Sara *et al.* High-throughput screening for new psychoactive substances (NPS) in whole blood by DLLME extraction and UHPLC-MS/MS analysis. **Journal of Chromatography B**, v. 1000, p. 57-68, 2015.

ODOARDI, Sara; ROMOLO, Francesco Saverio; STRANO-ROSSI, Sabina. A snapshot on NPS in Italy: Distribution of drugs in seized materials analysed in an Italian forensic laboratory in the period 2013-2015. **Forensic science international**, v. 265, p. 116-120, 2016.

PAILLET-LOILIER, Magalie *et al.* Emerging drugs of abuse: current perspectives on substituted cathinones. **Substance abuse and rehabilitation**, v. 5, p. 37, 2014.

PASCUAL-CARO, Sergi *et al.* A Fast Analytical Method for Determining Synthetic Cathinones in Oral Fluid by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Analytical Toxicology**, 2020.

PASIN, Daniel *et al.* Current applications of high-resolution mass spectrometry for the analysis of new psychoactive substances: a critical review. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 409, n. 25, p. 5821-5836, 2017.

PEACOCK, Amy *et al.* New psychoactive substances: challenges for drug surveillance, control, and public health responses. **The Lancet**, v. 394, n. 10209, p. 1668-1684, 2019.

PETERS, Frank T.; MEYER, Markus R. In vitro approaches to studying the metabolism of new psychoactive compounds. **Drug testing and analysis**, v. 3, n. 7-8, p. 483-495, 2011.

PIEPRZYCA, Ewelina *et al.* Synthetic cathinones—From natural plant stimulant to new drug of abuse. **European journal of pharmacology**, v. 875, p. 173012, 2020.

PROSSER, Jane M.; NELSON, Lewis S. The toxicology of bath salts: a review of synthetic cathinones. **Journal of Medical Toxicology**, v. 8, n. 1, p. 33-42, 2012.

REN, Yue *et al.* Analysis of biological samples using paper spray mass spectrometry: an investigation of impacts by the substrates, solvents and elution methods. **Chromatographia**, v. 76, n. 19-20, p. 1339-1346, 2013.

REZAEI, Mohammad *et al.* Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1-2, p. 1-9, 2006.

RILEY, Anthony L. *et al.* Abuse potential and toxicity of the synthetic cathinones (ie, “Bath salts”). **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 110, p. 150-173, 2020.

RINALDI, Raffaella *et al.* The rise of new psychoactive substances and psychiatric implications: A wide-ranging, multifaceted challenge that needs far-reaching common legislative strategies. **Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental**, v. 35, n. 3, p. e2727, 2020.

ROCCHI, Rachele *et al.* Analysis of new psychoactive substances in oral fluids by means of microextraction by packed sorbent followed by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Drug testing and analysis**, v. 10, n. 5, p. 865-873, 2018.

SIMMLER, L. D. *et al.* Pharmacological characterization of designer cathinones in vitro. **British journal of pharmacology**, v. 168, n. 2, p. 458-470, 2013.

SIMONIS, Sarah *et al.* Awareness of users and motivational factors for using new psychoactive substances in Belgium. **Harm Reduction Journal**, v. 17, n. 1, p. 1-11, 2020.

SOH, Yan Ni Annie; ELLIOTT, Simon. An investigation of the stability of emerging new psychoactive substances. **Drug testing and analysis**, v. 6, n. 7-8, p. 696-704, 2014.

STRANO ROSSI, Sabina *et al.* An analytical approach to the forensic identification of different classes of new psychoactive substances (NPSs) in seized materials. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 28, n. 17, p. 1904-1916, 2014.

SU, Yuan *et al.* Quantitative paper spray mass spectrometry analysis of drugs of abuse. **Analyst**, v. 138, n. 16, p. 4443-4447, 2013.

TAKÁTS, Zoltan *et al.* Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization. **Science**, v. 306, n. 5695, p. 471-473, 2004.

UNITED NATIONS OFFICE OF DRUG AND CRIME. UNODC. **Current NPS Threats – Volume III, October 2020**. Vienna, 2020.

UNITED NATIONS OFFICE OF DRUG AND CRIME. UNODC. **Early warning advisory on new psychoactive substances**. Vienna, 2020.

UNITED NATIONS OFFICE OF DRUG AND CRIME. UNODC. **World Drug Report 2020**. Vienna, 2020.

VALENTE, Maria João *et al.* Khat and synthetic cathinones: a review. **Archives of toxicology**, v. 88, n. 1, p. 15-45, 2014.

VAN AMSTERDAM, Jan; NUTT, David; VAN DEN BRINK, Wim. Generic legislation of new psychoactive drugs. **Journal of psychopharmacology**, v. 27, n. 3, p. 317-324, 2013.

VANDERGRIFT, Gregory W. *et al.* Paper spray mass spectrometry for the direct, semi-quantitative measurement of fentanyl and norfentanyl in complex matrices. **Clinical biochemistry**, v. 54, p. 106-111, 2018.

VINCENTI, Flaminia *et al.* Combination of pressurized liquid extraction with dispersive liquid liquid micro extraction for the determination of sixty drugs of abuse in hair. **Journal of Chromatography A**, v. 1605, p. 360348, 2019.

VIRCKS, Kyle E.; MULLIGAN, Christopher C. Rapid screening of synthetic cathinones as trace residues and in authentic seizures using a portable mass spectrometer equipped with desorption electrospray ionization. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 26, n. 23, p. 2665-2672, 2012.

WANG, He *et al.* Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry. **Angewandte Chemie**, v. 122, n. 5, p. 889-892, 2010.

WELTER-LUEDEKE, Jessica; MAURER, Hans H. New psychoactive substances: chemistry, pharmacology, metabolism, and detectability of amphetamine derivatives with modified ring systems. **Therapeutic drug monitoring**, v. 38, n. 1, p. 4-11, 2016.

WILLIAMS, Michelle; MARTIN, Jennifer; GALETTIS, Peter. A validated method for the detection of 32 bath salts in oral fluid. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 41, n. 8, p. 659-669, 2017.

YANG, Qian *et al.* Paper spray ionization devices for direct, biomedical analysis using mass spectrometry. **International journal of mass spectrometry**, v. 312, p. 201-207, 2012.

ZAWILSKA, Jolanta B. “Legal highs”—an emerging epidemic of novel psychoactive substances. **International review of neurobiology**, v. 120, p. 273-300, 2015.

ZAWILSKA, Jolanta B.; WOJCIESZAK, Jakub. Designer cathinones—an emerging class of novel recreational drugs. **Forensic science international**, v. 231, n. 1-3, p. 42-53, 2013.

ZHANG, Zhiping *et al.* Silica coated paper substrate for paper-spray analysis of therapeutic drugs in dried blood spots. **Analytical chemistry**, v. 84, n. 2, p. 931-938, 2012.

#### 4 ARTIGO CIENTÍFICO

O manuscrito *A low-voltage paper spray ionization QTOF-MS method for the qualitative analysis of NPS in street drug blotter samples*, que conta com a parte experimental desenvolvida nesta dissertação, foi submetido e publicado na revista *Forensic Toxicology* (ISSN Online 1860-8973, fator de impacto 2.945, 2019) e está apresentado a seguir.

##### **Artigo:**

BIRK, L., DE OLIVEIRA, S.E.F., MAFRA, G. *et al.* A low-voltage paper spray ionization QTOF-MS method for the qualitative analysis of NPS in street drug blotter samples. **Forensic Toxicol** 38, 227–231 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11419-019-00496-9>

## **A low voltage paper spray ionization QTOF method for the qualitative analysis of NPS in street drug blotter samples**

Letícia Birk<sup>1</sup>; Sarah Eller Franco de Oliveira<sup>1</sup>; Gabriela Mafra<sup>2</sup>; Rafael Brognoli<sup>2</sup>; Marcos Jose Souza Carpes<sup>3</sup>; Daniel Scolmeister<sup>3</sup>; Eduardo Carasek<sup>2</sup>; Josias de Oliveira Merib<sup>1</sup>; Tiago Franco de Oliveira<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Farmacociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, 90050-170, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 88040-900, Brasil.

<sup>3</sup> Instituto Geral de Perícias - IGP/RS, Porto Alegre, RS, 90230-010, Brasil.

## Abstract

**Purpose.** Analysis of new psychoactive substances (NPS) requires high selective analytical methodologies, including high-resolution mass spectrometry (HRMS). In addition, the development/application of a suitable sample preparation step can provide methods in which low amounts of solvents and samples are used, as well as minimal sample manipulation is required.

**Methods.** Herein, the use of ambient ionization techniques such as paper spray emerges as a powerful tool to enhance the performance of methodologies, particularly in forensic sciences. In this study, low-voltage paper spray ionization coupled with quadrupole time-of-flight-mass spectrometry (QTOF-MS) method was developed and employed for the qualitative analysis of NPS in street drug blotter samples.

**Results.** Analysis revealed the presence of LSD ( $m/z$  324.2058); 25C-NBOH ( $m/z$  322.1212); 25E-NBOH ( $m/z$  316.1917); 25I-NBOMe ( $m/z$  428.0699); DOB ( $m/z$  274.0432); and 4'-fluoro- $\alpha$ -pyrrolidinohexanophenone ( $m/z$  264.1768) in the samples analyzed.

**Conclusions.** This technique was successfully applied for the analysis of NPS and allowed for fast and accurate analytical method that can be highly exploited in forensic screening purposes.

**Keywords.** Paper spray ionization QTOF-MS, HRMS, NPS, Blotter paper samples, NBOMes, NBOHs.

## Introduction

The approaches used in forensic analysis of toxicants are usually made of a two-step process, a combination of screening followed by confirmation tests. Fast, sensitive and selective screening tests that cover a wide range of analytes but involve low sample manipulation are required. Generally, immunoassays and gas chromatography (GC) and high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with mass spectrometry (MS) detection are employed [1]. In this context, high-resolution mass spectrometry (HRMS) allows tentative identification for a wide variety of substances of toxicological interest in a single assay with the ability to improve mass accuracy and enhanced selectivity [2,3].

Current trends in analytical chemistry suggest using smaller quantities of samples, minimum volumes of organic solvents, reduced time of analysis, and straightforward and fast detection methods. Recently, the development of ambient ionization techniques has made this possible, and consequently these tools have garnered a great attention [2,4,5].

Paper spray ionization is an easy-to-use ambient mass spectrometry technique that is capable of desorbing/ionizing molecules from a sample surface at ambient conditions before its entering to a mass spectrometer. Generally, the combined use of solvent and high voltage provide an electric field on the paper tip leading to the formation of a spray in the form of a Taylor cone resulting in an ionization mechanism similar to electrospray [5]. Besides that, this method eliminates the need for complex sample pretreatment resulting in a faster analysis suitable for rapid screening purposes.

The use of paper spray ionization coupled to HRMS can easily provide useful data for forensic laboratories, because they allow non-targeted analysis, an essential tool for the investigation of known and unknown substances [6]. In recent years, a number of new compounds that are designed to mimic existing classical drugs have appeared in the illicit drug

market; these compounds are generally named as new psychoactive substances (NPS). NPS have commonly been detected in a number of samples in forensic laboratories. Depending on the position and number of substitutions made to the original structures, identification of NPS can represent a formidable challenge for toxicologists [7]. Therefore, the purpose of the present study was to propose a low-voltage paper spray ionization technique and its application in the detection of LSD, 25C-NBOH, 25E-NBOH, 25I-NBOMe, DOB and 4'-fluoro- $\alpha$ -pyrrolidinohexanophenone in street drug blotter samples.

## **Methods**

### **Reagents:**

LC-MS grade (>99.8%) methanol was purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Street blotter samples containing synthetic drugs were seized by the Forensic Department of Rio Grande do Sul State Police (Instituto Geral de Perícias, IGP-RS, Porto Alegre, RS, Brazil).

### **Instrumentation:**

Experiments were carried out using a lab-made low-voltage paper spray source coupled to a quadrupole time-of-flight (QTOF) mass spectrometry (MS) (microTOF-Q III; Bruker Daltonics, Bremen, Germany). The device was designed as shown in Fig. 1 to allow high throughput analysis using paper spray (Fig. 2). The paper spray system consisted of an electrical conductor with a grounding connection linked to strips of sticky copper tape. This conductor was a metal clip placed with a power supply comprised of a 9 V battery. The copper tape suited as an electric contact for each paper sample. Solvent was delivered manually by pipetting onto

the paper that contained the analytes. Low voltage was applied providing a field strength that is high enough to eject the target ions to glass capillary. Both nebulizer gas and dry gas were not used. Mass spectra were obtained with the following conditions: glass capillary voltage, 4000 V; drying temperature, 200 °C; funnel 1 and 2 radiofrequency, 200 Vpp; hexapole radiofrequency, 100 Vpp; quadrupole ion energy, 10 eV; collision energy, 0 eV; and mass range,  $m/z$  150-600 acquired with 5 Hz.

### **Experimental procedure:**

In order to investigate the applicability of this ionization technique in forensic purpose, this method was employed for the qualitative analysis of NPS in street drug blotter samples. Papers were cut in triangle-like shape with dimensions of 15 x 15 mm (base x height) and placed in the paper spray system. Each sample was directed toward the mass spectrometer inlet using an optimized distance of 3 mm. An aliquot of 50  $\mu$ L of methanol was added to the sample and a low voltage from the battery was applied. Total sample time analysis was 5 s.

### **Results and discussion**

In total, six different samples were analyzed and in all cases only the  $[M+H]^+$  ion was detected as shown in Fig. 3 (a-f) in a range of  $m/z$  150-600. The substances LSD ( $m/z$  324.2058), 25C-NBOH ( $m/z$  322.1212), 25E-NBOH ( $m/z$  316.1917), 25I-NBOMe ( $m/z$  428.0699), DOB ( $m/z$  274.0432), and 4'-fluoro- $\alpha$ -pyrrolidinohexanophenone ( $m/z$  264.1768) were detected with a mass error of  $< 5$  ppm as shown in Table 1. In Fig. 3d it was possible to observe peaks at  $m/z$  higher than those obtained for 25I-NBOMe including 525.1254 and 548.1323, which may occur due to some dyes contained in the blotter samples analyzed. Curiously, in Fig. 3e it was also

noticed the occurrence of peaks at  $m/z$  higher than those obtained for DOB including 482.1946 and 549.0824, which can be provided from untargeted compounds of the sample matrix since the samples can contain a number of different organic molecules. Moreover, the results obtained in Fig. 3e related to DOB ( $m/z$  at 228.9849; 230.9856; 256.9885; 258.9763; 274.0431 and 276.0451) are in accordance with the data obtained by Frison *et al.* [8] (at  $m/z$  228.9862; 230.9842; 256.9812; 258.9791; 274.0077 and 276.0056), in which the isotopic peaks referring to bromine are also observed. Interestingly, the mass spectrum of Fig. 3e exhibited a peak at  $m/z$  316.1913, which is possibly related to the compound 25E-NBOH ( $m/z$  316.1917) indicating that this sample can contain two of the NPS to be evaluated. No fragmentation or adducts occurrence were observed indicating a soft ionization method. Additionally, the intensities of the peaks that correspond to the protonated molecules were not observed when the experiments were conducted using 0 V or without methanol addition. The substances were analyzed by other techniques (GCMS, infrared spectroscopy and proton nuclear magnetic resonance spectrometry) to confirm the results.

The analytical technique proposed consists of versatile tools for the straightforward and high-throughput analyses of a number of chemical compounds. In the last years, HRMS has proven to be a very useful analytical tool that provides a satisfactory identification of unknown substances in forensic toxicology field. The replacement of a high voltage source commonly used in paper spray technique with a 9 V battery simplified the ionization source manufacturing and operation. Nonetheless, this shift provided a soft ionization that allowed sample preservation. Similar ambient ionization process were found by Narayanan *et. al* [9] when experiments were done for the analysis of triphenylphosphine, tributylphosphine, diphenylamine, and triethylamine with a carbon nanotube coated filter paper connected to a 3 V battery. However, as we have shown, the nonuse of nanomaterials was also suitable in this application.

Although this study proposed the development and application of low voltage paper spray ionization for raw samples, it is possible to expand its use for the analysis of liquid samples such as urine, oral fluid, blood and others. The sample solution can be dropped on a paper cut into a triangular shape and then be directly placed in the paper spray system. Therefore, the paper will act as an extraction tool, a sample loader and an ion-emitting source. In this study, blotter samples of 15 x 15 mm (base x height) were adopted; however, these dimensions can be modified without hindering the analytical response of the method. Despite these promising results, some limitations have been found in this method including low sensitivity at trace levels (15 µg per blotter or lower), low spray stability and ionization suppression in complex samples.

## **Conclusion**

In this study, a low voltage paper spray ionization QTOF method for screening of NPS was developed. The analysis is easy and rapid, confirming its applicability and importance to forensic screening purpose. This strategy allowed for minimal sample manipulation, which is a formidable aspect to avoid analyte losses during the sample preparation step. However, some limitations were also noticed and improvements are necessary for further studies.

## **Compliance with ethical standards**

## **Conflict of interest**

There are no financial or other relations that could lead to a conflict of interest.

## Ethical approval

This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

## References

1. McKenna J, Jett R, Shanks K, Manicke NE (2018) Toxicological drug screening using paper spray high-resolution tandem mass spectrometry (HR-MS/MS). *J Anal Toxicol* 42:300-310. <https://doi.org/10.1093/jat/bky001>
2. Vincenti M, Salomone A, Gerace E, Pirro V (2013) Application of mass spectrometry to hair analysis for forensic toxicological investigations. *Mass Spectrom Rev* 32:312-332. <https://doi.org/10.1002/mas.21364>
3. Glicksberg L, Bryand K, Kerrigan S (2016) Identification and quantification of synthetic cathinones in blood and urine using liquid chromatography-quadrupole/time of flight (LC-Q/TOF) mass spectrometry. *J Chromatogr B* 1035:91-103. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.09.027>
4. Keating JE, Minges JT, Randell SH, Glish GL (2018) Paper spray mass spectrometry for high-throughput quantification of nicotine and cotinine. *Anal Methods* 10:46-50. <https://doi.org/10.1039/C7AY022404B>

5. Liu J, Wang H, Manicke NE, Lin J-M, Cooks RG, Ouyang Z (2010) Development, characterization, and application of paper spray ionization. *Anal Chem* 82:2463-2471. <https://doi.org/10.1021/ac902854g>
6. Maurer HH (2018) Mass spectrometry for research and application in therapeutic drug monitoring or clinical and forensic toxicology. *Ther Drug Monit* 40:389-393. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000525>
7. Adamowicz P, Tokarczyk B (2016) Simple and rapid screening procedure for 143 new psychoactive substances by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal* 8:652-667. <https://doi.org/10.1002/dta.1815>
8. Frison G, Odoardi S, Frasson S, Sciarrone R, Ortar G, Romolo FS; Rossi SS (2015) Characterization of the designer drug bk-2C-B (2-amino-1-(bromo-dimethoxyphenyl)ethan-1-one) by gas chromatography/mass spectrometry without and with derivatization with 2,2,2-trichloroethyl chloroformate, liquid chromatography/high-resolution mass spectrometry, and nuclear magnetic resonance. *Rapid Commun Mass Spectrom* 29:1196–1204. <https://doi.org/10.1002/rcm.721>
9. Narayanan R, Sarkar D, Cooks RG, Pradeep T (2014) Molecular ionization from carbon nanotube paper. *Angew Chem Int Ed* 53:5936–5940. <https://doi.org/10.1002/anie.201311053>

## FIGURE AND TABLE LEGENDS

**Table 1** High resolution mass data of compounds detected for street drug blotter samples by low voltage paper spray ionization quadrupole time-of-flight-mass spectrometry

**Fig. 1** Photographic details of the lab-made low-voltage paper spray source coupled to a quadrupole time-of-flight-mass spectrometry (QTOF-MS) system, illustrating the positioning of the paper linked to the 9 V battery by the electrical conductor

**Fig. 2** Photographic details of a drug blotter sample in front of the atmospheric inlet of a QTOF-MS system

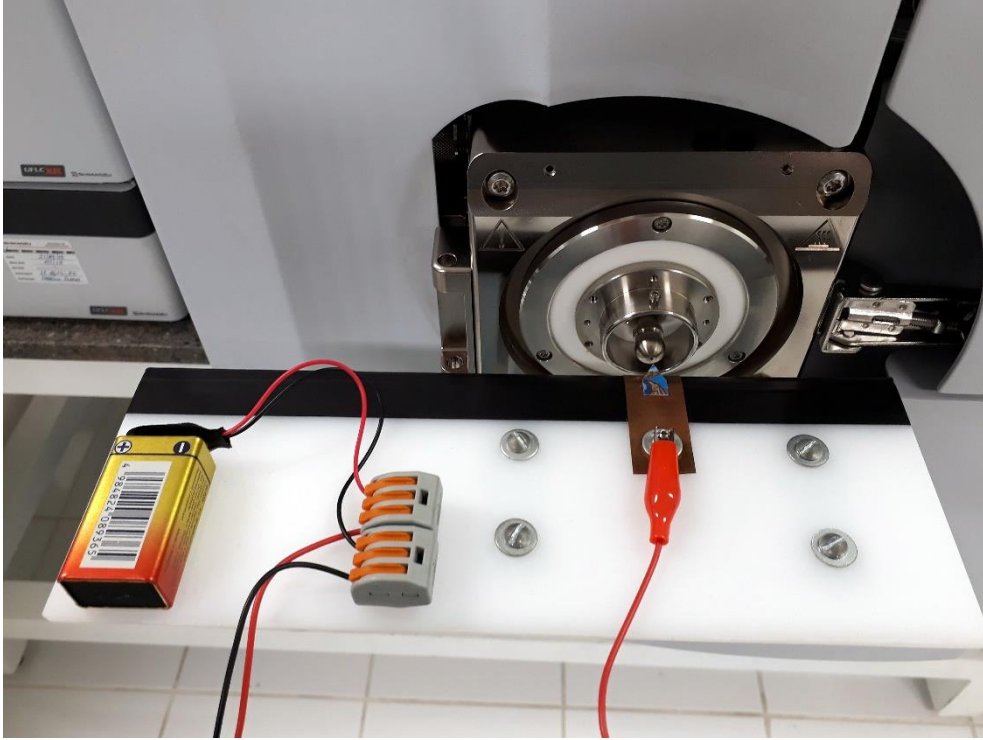
**Fig. 3** Mass spectra of street drug blotter samples analyzed by low voltage paper spray ionization QTOF-MS: **(a)** LSD, **(b)** 25C-NBOH, **(c)** 25E-NBOH, **(d)** 25I-NBOMe, **(e)** DOB **(f)** 4'-fluoro- $\alpha$ -pyrrolidinohexanophenone

**Table 1** Paper spray ionization-quadrupole time-of-flight mass spectra obtained for six different blotter paper samples

Compound tentatively identified	Molecular formula	Theoretical mass	Theoretical precursor ion [M+H] <sup>+</sup>	Detected precursor ion [M+H] <sup>+</sup>	Error (ppm)
LSD	C <sub>20</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O	323.1998	324.2070	324.2058	3.70
25C-NBOH	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> ClNO <sub>3</sub>	321.1132	322.1204	322.1212	2.48
25E-NBOH	C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>3</sub>	315.1834	316.1907	316.1917	3.16
25I-NBOMe	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> INO <sub>3</sub>	427.0644	428.0717	428.0699	4.20
DOB	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> BrNO <sub>2</sub>	273.0364	274.0437	274.0432	1.82
4'-fluoro- $\alpha$ -PHP	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> FNO	263.1685	264.1758	264.1768	3.78

*LSD* lysergic acid diethylamide, *25C-NBOH* 2-[[[2-(4-chloro-2,5-dimethoxyphenyl) ethyl] amino] methyl]-phenol, *25E-NBOH* 2-[[[2-(ethyl-2,5-dimethoxyphenyl) ethyl] amino] methyl]-phenol, *25I-NBOMe* 4-iodo-2,5-dimethoxy-*N*-[(2-methoxyphenyl) methyl]-benzeneethanamine, *DOB* 4-bromo-2,5-dimethoxy- $\alpha$ -methyl-benzeneethanamine, *4'-fluoro- $\alpha$ -PHP* 4'-fluoro- $\alpha$ -pyrrolidinohexanophenone

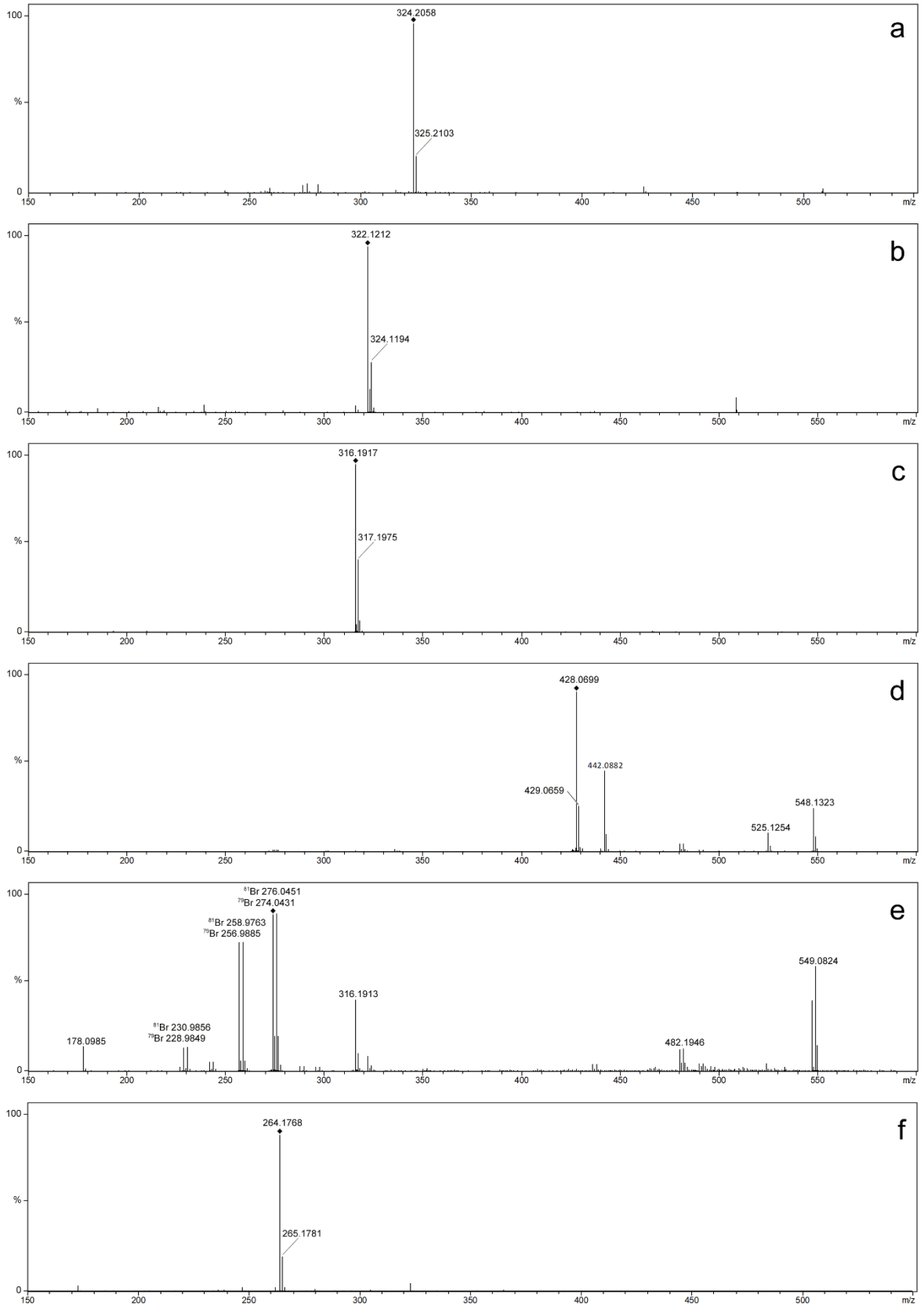
**Fig. 1**



**Fig. 2**



Fig. 3



## 5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível realizar a análise direta de seis amostras de selos contendo catinonas sintéticas e fenetilaminas, que foram apreendidos pelo IGP-RS através da técnica de PSI utilizando baixa voltagem acoplada ao HRMS. A metodologia se mostrou simples e rápida e foi capaz de caracterizar os compostos LSD, 25C-NBOH, 25E-NBOH, 25I-NBOMe, DOB e 4F-PHP presentes nos selos através da análise da massa exata. Outro aspecto vantajoso foi que a análise se mostrou não-destrutiva das amostras, pela ionização branda, o que possibilita que elas passem pelo processo de análise novamente caso seja necessário. Além disso, o preparo requer mínima manipulação, o que evita erros e possíveis contaminações externas da amostra. Dessa forma, apresenta-se como uma alternativa interessante e viável para o uso na triagem de amostras no cenário da química forense.

No entanto, diversos fatores ainda necessitam de investigação para o aprimoramento da metodologia. Efeitos relacionados ao tipo e volume de solvente e distância do *inlet* precisam ser avaliados de forma mais detalhada. Além disso, a influência do tipo de papel relacionado à técnica, constitui um parâmetro importante para aplicação em outros tipos de amostra. Importante ainda, a caracterização do processo de ionização em baixa voltagem. Por fim, verificou-se que o uso de baixa voltagem na técnica de PSI tem grande potencial de aplicação em diversas áreas das ciências forenses.

## **ANEXOS**

### **ANEXO A - Normas da revista**

#### **Title Page**

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

#### **Abstract**

Please provide a structured abstract of up to 250 words which should be divided into the following sections:

- Purpose (stating the main purposes and research question)
- Methods
- Results
- Conclusions

Keywords: Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

#### **Text**

- Text of the paper divided into following sections, if appropriate: Introduction; Materials and methods; Results; Discussion; Conclusions; Acknowledgements; Conflict of Interest; References; tables; figure legends
- In this journal, the format "Results and discussion" is not acceptable; separate "Results" and "Discussion" sections are mandatory in Forensic Toxicology. However, the "Results" section is allowed to include short comments just below results obtained. The "Discussion" section should describe the study from broader points of view, such as discussions about the novelty of the main content, citing preceding papers on similar subjects, and perspectives of the study described in the manuscript.
- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

#### **Abbreviations**

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

#### **Footnotes**

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not

contain any figures or tables. Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols. Always use footnotes instead of endnotes.

## Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

## References

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

References should be numbered in the order in which they appear in the text and should be listed in numerical order. References, with correct punctuation, should be styled as follows:

\*Journal papers: name(s) and initial(s) of all authors; year; full title; journal title abbreviated in accordance with international practice; volume number; first and last page numbers

Example: Hattori H, Arinobu T, Iwai M, Masuda K, Suzuki O, Seno H (2005) Analysis of butyrophenones in whole blood specimens by LC/MS/MS using a new polymer column. *Jpn J Forensic Toxicol* 23:13–17

If available, the DOI of the cited literature should be added at the end of the reference in question.

Example: Moriya F, Hashimoto Y (2004) Nicotine and cotinine levels in blood and urine from forensic autopsy cases. *Legal Med* 6: 164–169. doi: 10.1016/j.legalmed.2004.04.005

A paper published online but not yet in print can be cited using the DOI.

Example: Hann S, Latkoczy C, Bereuter TL, Prohaska T, Stingeder G, Reiter C (2005) Reconstruction of a case of thallium poisoning using LA-ICP-SFMS. *Int J Legal Med*. doi: 10.1007/s00414-004-0465-0

\*Single contributions in a book: name(s) and initial(s) of all authors; year; title of article; editor(s); title of book; edition; volume number; publisher; place of publication; page numbers

Example: Rifkind BM, Tamir I, Heiss G (1978) Preliminary high\_density lipoprotein findings. In: Gotto AM, Miller F, Oliver MF (eds) *High\_density lipoprotein and atherosclerosis*. Elsevier, Amsterdam, pp 109–119

\*Book: name and initial(s) of all authors; year; title; publisher; place of publication

Example: Suzuki O, Watanabe K (2005) *Drugs and poisons in humans: a handbook of practical analysis*. Springer, Berlin Heidelberg New York

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

## Tables

- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

## **ArtWork**

### Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

### Line Art

- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

### Halftone Art

- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

### Combination Art

- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

### Color Art

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

### Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions into your illustrations.

### Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in the text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article/chapter and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic supplementary Material) should, however, be numbered separately.

### Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

- Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

### Figure Placement and Size

- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

### Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

### Accessibility

- In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that
- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1.

### **Electronic Supplementary Material**

Electronic supplementary material will be published in the online version only.

It may consist of:

- Information that cannot be printed: animations, video clips, sound recordings
- Information that is more convenient in electronic form: sequences, spectral data, etc.
- Large original data, e.g. additional tables, illustrations, etc.

### Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

### Audio, Video, and Animations

- Always use MPEG-1 (.mpg) format.

### Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

### Spreadsheets

- Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.
- If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

### Specialized Formats

- Specialized formats such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

### Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

### Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4”.
- Name the files consecutively, e.g. “ESM\_3.mpg”, “ESM\_4.pdf”.

### **After Acceptance**

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer’s web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice. Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs. You will also receive a separate e-mail for ordering offprints and printing of figures in color.

#### **Open Choice Publication**

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular "subscription-based" article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink. Springer Open Choice [<http://springer.com/openchoice>]

#### **Copyright transfer**

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Japanese Association of Forensic Toxicology and Springer (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

#### **Offprints**

Offprints can be ordered by the corresponding author.

#### **Color illustrations**

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

#### **Proofreading**

Authors are informed by e-mail that a temporary URL has been created from which they can obtain their proofs. Proofreading is the responsibility of the author. Authors should make their proof corrections (formal corrections only) on a printout of the pdf file supplied, checking to see that the text is complete and that all figures and tables are included. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, and changes in title and authorship, are not allowed

without the approval of the responsible editor. In such a case please contact the editorial office before returning the proofs to the publisher. After online publication, corrections can be made only in exceptional cases and in the form of an erratum, which will be hyperlinked to the paper.

#### • Online First

Papers will be published online about one week after receipt of the corrected proofs. Papers published online can already be cited by their DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

#### **Open Choice**

Open Choice allows you to publish open access in more than 1850 Springer Nature journals, making your research more visible and accessible immediately on publication.

Article processing charges (APCs) vary by journal – view the full list

Benefits:

Increased researcher engagement: Open Choice enables access by anyone with an internet connection, immediately on publication.

Higher visibility and impact: In Springer hybrid journals, OA articles are accessed 4 times more often on average, and cited 1.7 more times on average\*.

Easy compliance with funder and institutional mandates: Many funders require open access publishing, and some take compliance into account when assessing future grant applications.

It is easy to find funding to support open access – please see our funding and support pages for more information.

\*) Within the first three years of publication. Springer Nature hybrid journal OA impact analysis, 2018.

Open Choice

Funding and Support pages

Copyright and license term – CC BY

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License