

[REDACTED]

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

[REDACTED]

[REDACTED]

CONTRIBUIÇÃO A ANÁLISE DE DROGAS POR MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS  
E ESPECTROMÉTRICOS COM AUXÍLIO DE COMPUTADOR

Eveline Solon Barreira

Dissertação de Mestrado

[REDACTED]

Fortaleza - Ceará

1967

CONTRIBUIÇÃO A ANÁLISE DE DROGAS POR MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS  
E ESPECTROMÉTRICOS, COM AUXÍLIO DE COMPUTADOR

EVELINE SOLON BARREIRA

---


Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Gradua  
ção em Química Orgânica, para obtenção do Grau de Mestre.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ


Fortaleza - 1987


O trabalho descrito nesta Dissertação foi realizado sob a orientação dos Profs. JOSÉ WILSON DE ALENCAR e JOSÉ PAZ PARENTE do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

Esta Dissertação foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

  
Eveline Solon Barreira

Dissertação aprovada em 19/06/83

  
Prof. José Wilson de Alencar  
Orientador

  
Prof. Walter Baptist Mors  
Universidade Federal do Rio  
de Janeiro

  
Prof. José Paz Parente



Ao meu pai, José Coracy, e à minha  
mãe, Maria Luíza, com carinho.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor José Wilson de Alencar, pela minha iniciação científica e pela orientação deste trabalho com amizade, dedicação e competência científica, os meus sinceros e respeitosos agradecimentos.

Ao Professor José Paz Parente, por sua dedicação, incentivo e amizade no transcorrer desta Dissertação.

Ao Professor Walter Baptist Mors, que aceitou gentilmente participar como membro desta Banca Examinadora.

Ao Professor Afrânio Aragão Craveiro, membro do Comitê de Dissertação, pela amizade e efetiva colaboração durante a execução deste trabalho.

Aos Professores Fco. José de Abreu Matos e Carlos Humberto de Sousa Andrade, pela amizade durante o transcorrer de todo o Curso de Mestrado.

Ao Professor Gouvan Cavalcante de Magalhães, Chefe do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, pela amizade e atenção a mim dispensada sempre que solicitado.

À Professora Helena Lutécia Luna Coelho do Departamento de Farmácia, pela valiosa contribuição científica e amizade no desenvolvimento deste trabalho.

À Professora Rita de Cássia S.C.B. Barbosa do Laboratório Tec. Farmacêutica da UFPb, pela realização dos testes biológicos efetuados com benzamidas.

Aos Professores, colegas e funcionários que de uma forma direta ou indireta, contribuíram para a realização des-

te trabalho.

À Sra. Maria Vilani Alencar, pela apresentação dati  
lográfica.

Ao CNPq e CAPES pela concessão de Bolsa de Estudo  
durante todo o Curso de Mestrado.

## LISTA DE ABREVIATURAS

BASIC	- Beginner's All Purpose Symbolic Instruction Code
CCD	- Cromatografia em Camada Delgada
CGL	- Cromatografia Gás-líquido
CGL-EM	- Cromatografia Gás-líquido acoplada a espectrometria de massa
CLAE	- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CP	- Cromatografia de Partição em Papel
DE	- Detecção Eletroquímica
FN	- Fase normal
FR	- Fase reserva
IV	- Infravermelho
m/e	- Relação massa-carga
PI	- Par de íons
RMN <sup>1</sup> H	- Ressonância Magnética Nuclear Protônica
SNC	- Sistema Nervoso Central
SP-2100	- Fase de coluna capilar
THC	- Tetraidrocanabinol
TA	- Troca de ânions
TC	- Troca de cátions
TI	- Troca de íons
T <sub>R</sub>	- Tempo de Retenção
UV	- Ultravioleta

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE QUADROS.....	xvi
LISTA DE TABELAS.....	xvii
RESUMO.....	xviii
ABSTRACT.....	xx
CAPÍTULO 1	
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 2	
EMPREGO DE CLAE NA ANÁLISE DE DROGAS E FÁRMACOS - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
CAPÍTULO 3	
ISOLAMENTO DE PADRÕES DE FÁRMACOS.....	14
CAPÍTULO 4	
PROTOCOLO PARA IDENTIFICAÇÃO DE DROGAS POR COMPUTADOR USANDO DADOS CROMATOGRÁFICOS E ESPECTROMÉTRICOS.....	18
CAPÍTULO 5	
DERIVATIZAÇÃO.....	73



## CAPÍTULO 6

RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	79
Padronização da cromatografia de partição em papel (CP) .....	80
Padronização em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) .....	80
BENZOILAÇÃO SELETIVA DE AMINAS .....	81
Padronização em cromatografia gás-líquido aco plada à espectrometria de massa (CGL-EM).....	85
Ácido hipúrico a partir da glicina .....	86
Identificação de drogas em fármacos. <u>Pesqui</u> sa numa biblioteca de padrões .....	87
Identificação de alguns fármacos estudados nas amostras de urina selecionadas para o trabalho .....	90

## CAPÍTULO 7

## TESTES BIOLÓGICOS EFETUADOS COM BENZAMIDAS

. Avaliação da atividade antibiótica de <u>ben</u> zamidas .....	139
. Microorganismos .....	140
. Resultados da avaliação da atividade <u>bioló</u> gica das benzamidas .....	141

## PARTE EXPERIMENTAL

. Soluções padrões dos fármacos.....	145
. Aparelhos e equipamentos acessórios.....	145
. Adsorventes, solventes e sistemas de sol- ventes.....	146
. Agentes cromogênicos.....	147
. Método de extração.....	147
. Marcha analítica para separação de fárma cos e toxinas da urina.....	148
. Método de análise.....	149
. Fase preliminar de triagem (CP).....	150
. Fase posterior de purificação e confirmação....	150
. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	151
. Cromatografia gás-líquido acoplada à es- pectrometria de massa (CGL-EM).....	152
. Aplicação da marcha analítica proposta para controle dos fármacos estudados em amostras de urina selecionadas para o trabalho.....	151
. Derivatização da anfetamina com CS <sub>2</sub> .....	153
. Derivatização da anfetamina em urina com CS <sub>2</sub> .....	153
. Derivatização da anfetamina em urina com acetona.....	153

	Página
. Derivatização de aminas alifáticas com cloreto de benzofila.....	154
. Preparação das amostras padrões.....	154
. Procedimento de derivatização.....	154
. Separação e quantificação por CLAE.....	154
, Síntese do ácido hipúrico.....	155
. Processamento de dados.....	155
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	157

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
01. Programa em <u>BASIC</u> para comparar a identidade de um desconhecido com as entradas da biblioteca de drogas.....	70
02. Programa em <u>BASIC</u> para incorporar entradas na biblioteca de drogas.....	71
03. Programa em <u>BASIC</u> para ler entradas existentes na biblioteca de drogas.....	72
04. Reações gerais de aminas primárias e secundárias com cloreto de benzoíla.....	76
05. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do fenobarbital.....	111
06. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da mistura de 4 drogas barbitúricas com cafeína.....	112
07. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da mistura de 3 drogas analgésicas antipiréticas e derivadas do paraminofenol.....	113
08. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) mistura de 2 drogas alcaloídicas.....	114
09. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da mistura de 2 drogas antipsicóticas e fenotiazínicas com nicotina e cafeína.....	115
10. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da mistura de 3 drogas antidepressivas.....	

Figura	Página
sivas tricíclicas (imipramínicas).....	116
11. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da mistura de 3 drogas ansiolíticas benzodiazepínicas com 1 droga barbitúrica.....	117
12. Perfil da eluição da N-benzoil-etanolamina.....	118
13. Espectro de massa (70eV) da N-benzoil-etanolamina.....	119
14. Perfil de eluição de 8 aminas e glicina derivatizadas com cloreto de benzoila.....	119
15. CLAE de N-benzoil-piperidina.....	120
16. CLAE do extrato etanólico da pimenta do reino submetido a derivatização com cloreto de benzoila.....	121
17. CLAE da coinjeção de N-benzoil-piperidina com a amostra em análise.....	122
18. Cromatografia gás-líquido da N-benzoil-piperidina acoplada a espectrometria de massa...	123
19. Espectro de massa (70eV) da N-benzoil-piperidina.....	123
20. Espectro de massa (70eV) da anfetamina derivatizada com acetona.....	124
21. Espectro de massa (70eV) da anfetamina derivatizada com CS <sub>2</sub> .....	124
22. Espectro no UV do ácido hipúrico.....	127
23. Espectro no IV do ácido hipúrico.....	128



Figura	Página
24. Espectro de RMN <sup>1</sup> H do ácido hipúrico .....	128
25. Espectro de RMN <sup>1</sup> H do ácido hipúrico (trocando com o D <sub>2</sub> O) .....	129
26. Espectro de massa (70eV) do ácido hi púrico .....	129
27. CLAE do ácido hipúrico .....	130
28. Resposta do computador para a substân cia-problema nº 1, após comparação com as estradas da biblioteca de pa drões "Drogaev/Arq" .....	131
29. Resposta do computador para a subs tância-problema nº 2, após compara ção com as entradas da biblioteca de padrões "Drogaev/Arq" .....	132
30. Resposta do computador para a subs tância-problema nº 3, após compara ção com as entradas da biblioteca de padrões "Drogaev/Arq" .....	133
31. Cromatografia líquida de alta efici ência de uma amostra de urina suspei ta de intoxicação por fenobarbital .....	134
32. Cromatografia líquida de alta efici	

Figura	Página
<p>ência (CLAE) do perfil cromatográfi co de urina (pH ácido) considerado normal (branco) .....</p>	135
<p>33. Cromatografia líquida de alta efici ência (CLAE) de uma amostra de uri na suspeita de intoxicação por lora zepam .....</p>	136
<p>34. Cromatografia líquida de alta efici ência (CLAE) do perfil cromatográfi co de urina (pH básico) considerado normal (branco) .....</p>	137
<p>35. Cromatografia líquida de alta efici ência (CLAE) de uma amostra de uri na suspeita de intoxicação por pro pifenazona (tonopan) .....</p>	138
<p>36. Esquema da marcha analítica .....</p>	156

## LISTA DE QUADROS

Quadro	Página
01. Principais fragmentos para o derivado da anfetamina com acetona no espectrômetro de massa.....	125
02. Principais fragmentos para o derivado da anfetamina com CS <sub>2</sub> no espectrômetro de massa.....	126

## LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
I. Aplicações de CLAE na análise de fármacos.....	7
II. Relação do nome da droga, peso molecular, fórmula molecular, medicamento de origem e técnicas de caracterização usadas.....	16
III. Fármacos e seus metabólitos.....	20
IV. Entradas da biblioteca de drogas.....	43
V. Grupos funcionais e procedimento de derivatização.....	78
VI. Valores de $R_f$ , em cromatografia de partição em papel, e comportamento das substâncias frente às revelações com agentes cromogênicos.....	97
VII. Valores dos tempos de retenção em CLAE, bem como eluentes e fluxos referentes às substâncias analisadas.....	100
VIII. Principais fragmentos das substâncias analisadas por espectrometria de massa a 70eV....	105
IX. Resultados da avaliação da atividade das benzamidas sobre bactérias e leveduras.....	146
X. Resultados da avaliação da atividade das benzamidas sobre fungos filamentosos.....	147



## RESUMO

Apresenta-se na Dissertação uma síntese do levantamento bibliográfico sobre o emprego da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) na análise de drogas e fármacos.

Perfís cromatográficos e espectrométricos de padrões isolados de fármacos da Farmacopéia Brasileira foram obtidos, visando a sua incorporação numa biblioteca de padrões destinada à identificação de amostras problema.

A necessidade de detecção de drogas com grupos amínicos em UV a 254 nm, ensejou o desenvolvimento de uma técnica de benzoilação seletiva destes compostos, através de uma reação de Schotten-Baumann modificada. Os derivados obtidos, além de facilmente cromatografados em fase reversa de CLAE, podem ser detectados em quantidades abaixo de 4ng. Alguns desses derivados foram submetidos a testes antimicrobianos qualitativos para bactérias e fungos com resultados positivos em alguns experimentos.

Informações preliminares sobre o tipo de droga e seu grau de pureza, foram obtidas pela padronização da corrida em cromatografia de partição em papel (CP) no que diz respeito a cor da mancha, Rf e mistura de solventes.

CLAE e a cromatografia gás-líquido acoplada à espectrometria de massa (CGL-EM) foram usadas na separação, purificação e na identificação das substâncias analisadas.

Desenvolveu-se um novo teste para revelação de barbitúricos e compostos semelhantes (hidantoínas) em cromato-



grafia de partição em papel cuja aplicação forneceu resultados experimentais satisfatórios.

Apresenta-se e discute-se uma técnica computarizada para identificação de drogas em preparações fisiológicas. A técnica baseia-se na comparação de dados cromatográficos e espectrométricos da amostra problema com as correspondentes de uma biblioteca de padrões.

Os dados do ácido hipúrico - um metabólito de componentes dietéticos encontrado com frequência na urina humana - foram obtidos de sua síntese realizada a partir da glicina, usando a reação de Schotten-Baumann modificada.

Um dos capítulos se destina aos dados retirados da literatura e/ou determinados em nosso laboratório de cada uma das entradas presentes na biblioteca.

## ABSTRACT

A survey of the literature on drug analysis using high pressure liquid chromatography (HPLC) is presented.

Determination of chromatographic and spectrometric profiles of known drugs from the Brazilian Pharmacopoeia was accomplished in order to use the data in computer library search programs.

Selective benzylation of amino groups in the presence of alcoholic hydroxy groups was achieved by a modified Schotten-Baumann reaction. The derivatives, easily chromatographed on reverse phase HPLC with limits of detection under 4ng, were submitted to qualitative antimicrobial screening against bacteria and fungi, showing significant activity in some experiments.

Preliminary information on drug types and purity grade were obtained under standardized paper chromatographic conditions involving spot color, Rf and solvent mixtures.

GLC-MS and HPLC were both used for analytical, separation and purification purposes.

A new color test for barbiturates in paper chromatography is presented. The result of its application to drug analysis showed to be satisfactory.

A computerized technique for drug identification in

physiological preparations is presented and discussed.

The technique consists in matching chromatographic and spectrometric data from problem sample against each entry corresponding data existing in the computer library.

Hippuric acid data - a common dietetic metabolite present in human urine - was obtained by its synthesis from glycine using the modified Schotten-Baumann reaction.

A library search technique for drug identification in problem samples is described. This search involves matching PC, HPLC, and MS data of the problem against to the same kind of data existing for each entry in the computer library.

## 1. INTRODUÇÃO

No prefácio do livro Handbook of Chromatography, RAM G. GUPTA<sup>1</sup> analisa com muita felicidade a motivação que a análise de drogas tem dado ao desenvolvimento não somente da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), senão a todas as técnicas de separação cromatográfica usadas na atualidade.

Em verdade, por se tratar de um tipo de análise que requer detectores sensíveis, seletivos e colunas de alta eficiência, tem a análise de drogas se beneficiado de forma substancial com o aperfeiçoamento das técnicas de análise e do instrumental usado.

Além disso, a cada nova droga que surge faz-se seguir o desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis ao completo estudo da sua atividade fármaco-cinética, que se fazem acompanhar de imuno-ensaios ou outros tipos de ensaios, naturalmente, da droga em estudo.

A importância das técnicas cromatográficas, especialmente quando aliadas a métodos espectrométricos pode ser de grande valia para análises forênses e de emergência. Infelizmente, os laboratórios de Análises Clínicas no Brasil, talvez em virtude do alto custo do equipamento requerido, não as usam rotineiramente.



ramente.

O emprego de colunas capilares em cromatografia gás-líquido (CGL) contribuiu para aumentar de forma substancial a eficiência deste tipo de análise cromatográfica quando a amostra utilizada é volátil. Esta condição justifica que os pesquisadores estejam continuamente preocupados em derivatizar substâncias não voláteis para aumentar a eficiência das suas análises.

Por outro lado, o uso de colunas capilares tem contribuído para melhorar a separação de constituintes em CGL de substâncias voláteis. No caso de hidrocarbonetos e óleos essenciais este número chega à casa de centenas de constituintes. A par dessa vantagem surgiu um grande problema que precisa ser solucionado. Nem todos os constituintes separados podem ser identificados com segurança por métodos exclusivamente cromatográficos, mesmo quando nenhum deles venha a ser na mistura um constituinte inédito.

Uma das alternativas é acoplar a CGL a espectrometria de massa e através dos fragmentos obtidos identificar os constituintes a respeito dos quais existem dúvidas de identidade. A dificuldade reside no elevado custo deste equipamento e na sua difícil manutenção o que reduz a sua disponibilidade apenas a grandes laboratórios.

Uma outra alternativa, a qual é parte do objeto do presente trabalho, é reunir, sobre cada constituinte, o maior número de dados que possam ser obtidos em laboratórios que dis



ponham de instrumental adequado ou extraí-los da literatura e com eles organizar uma base de dados para computador contendo o maior número possível de compostos, e de informações sobre cada composto.

Para tornar viável esta alternativa nos propusemos a realizar o presente trabalho, o qual representa um esquema analítico para identificação de drogas baseado no desenvolvimento de uma biblioteca de padrões para identificação automática de drogas em exames "anti-doping" e exames toxicológicos em preparações fisiológicas.

Na realidade, o presente trabalho nasceu de um convênio firmado entre a Fundação Cearense de Pesquisa e Cultura da Universidade Federal do Ceará (UFC) e a Federação Cearense de Futebol, para a execução em caráter experimental de exames "anti-doping" pelo laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica do Centro de Ciências da UFC em amostras de urina colhidas durante competições realizadas pelo campeonato Cearense de Futebol.

Para poder pôr em prática a idéia, estabelecemos as seguintes metas a serem vencidas:

1. Levantamento bibliográfico tão completo quanto possível do emprego da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) na análise de drogas e fármacos.
2. Obtenção de padrões, para comparação, a serem usados durante

a efetivação das análises.

3. Obtenção de boa reprodutibilidade nos resultados divulgados, para evitar resultados divergentes entre a prova e a contra-prova nos casos em que esta se tornar necessária.
  
4. Buscar caminhos alternativos em CLAE para preparação de derivados a fim de detectar nas nossas condições experimentais de trabalho, a presença de substâncias fora do alcance de detecção do nosso instrumento.

Nas discussões que seguem utilizaremos o termo derivatizar para significar preparação de derivados químicos pelos seguintes motivos:

- a) o termo é muito comum na terminologia cotidiana dos químicos embora não seja encontrado em nosso vernáculo.
- b) a palavra vernácula para exprimir a ação desejada seria derivar ou melhor preparar o derivado já que derivar poderia ter outra interpretação.

As respostas encontradas para as metas acima constituem o objeto da presente Dissertação de Mestrado.

## 2. EMPREGO DE CLAE NA ANÁLISE DE DROGAS E FÁRMACOS

- Revisão bibliográfica -

Na época da assinatura do convênio entre a Fundação Cearense de Pesquisa e Cultura e a Federação Cearense de Futebol, referida na introdução deste trabalho, estávamos envolvidos com técnicas de separação cromatográfica, especialmente Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Por esta razão, nos sentimos motivados a testar o uso sistemático desta técnica na análise de fármacos e drogas, sem prejuízo naturalmente, de tudo que fosse necessário e estivesse ao nosso alcance para a obtenção de resultados confiáveis.

A CLAE é uma técnica cromatográfica relativamente recente com as primeiras informações sobre ela surgidas entre 1967 e 1969<sup>2-3</sup>. A técnica possui as mesmas características de todos os processos cromatográficos: envolve a utilização de uma fase móvel, no caso específico líquida, de uma fase estacionária também líquida e de uma forma mecânica de arranjos entre as duas fases (coluna).

A separação dos constituintes da mistura decorre da diferença de comportamento de alguma propriedade de cada componente que pode ser medida, com a mesma propriedade da fase móvel na qual a substância está sendo eluída. As propriedades mais comumente exploradas para a detecção são: índice de refração, fluorescência absorção na região do ultr



violeta e na região do infravermelho do espectro eletromagnético.

A detecção dos constituintes é feita por meio de dispositivos que possam apreciar as medidas de alguma das propriedades mencionadas, com sensibilidade suficiente para acusar a presença de quantidades na mistura, na ordem de, pelo menos, alguns microgramas.

Dados referentes ao levantamento bibliográfico em CLAE compreendendo o período de 1970 - 1986 são mostrados na Tabela I onde se apresentam classe da substância, fase estacionária e número da referência bibliográfica no presente trabalho.

Nos últimos anos, tem havido um aumento quase exponencial na literatura de trabalhos sobre o uso de CLAE na identificação, análise qualitativa e quantitativa de drogas que são termicamente instáveis e/ou de baixa volatilidade, além de aplicações de CLAE nas áreas farmacêuticas<sup>4-28</sup>, forense<sup>28-38</sup> e toxicológica<sup>28,30,32,35,36,39,41</sup>. O papel de CLAE na micro-determinação de compostos orgânicos em fluídos do corpo tem sido igualmente discutido<sup>42-49</sup>.

Este tipo de cromatografia tem sido largamente aplicado às análises de metabólitos de drogas, de baixo e alto peso molecular<sup>50-57</sup>.

Tabela I. Aplicações de CLAE na análise de fármacos

Classe de substância	Fase estacionária	Ref.
1. Anticonvulsivantes: barbitúricos e não-barbitúricos		
1.1. Barbitúricos e/ou metabólitos	FR: C-18	58,59,60,61,62,63,64,65,66,67,68,69
	FR: C-8	70
	FN: Hypersil	71
	FR: ODS. Hypersil	71,72,73,74,75
	FR: CH-10	76
	FR: C-18 e partisil	77
	várias	78,79,80
	FN: Carbowax 400	81
	FN: Partisil	82
	FN: Silica	83
	FR: PI: C-18	84
1.2. Não-barbitúricos e/ou metabólitos	FR: C-18	41,66,69,134,135,136,137,138,139,140,141
	FR: C-8	41, 142
	FR: RP-8	143,144
	FR: C-18	145
	FR: PRP-1	146
	FN: CN	147
	FR: CN	147
	FR: Spherisorb 5-ODS	148,149



Classe de substância	Fase estacionária	Ref.
	FR: RP-18 e C-18	67, 150
	FR: RP-18	151
	FR: ODS-5	75
	FR: ODS	83
2. Ansiolíticos benzodiazepínicos		
	FR: C-18 e corasil	85
	FR: C-18	51,65,66,69,86,87,88
		89,90,91,92
	FR: RP-8	93
	FR: Me-Silica	94
	FN: Silica-60	95
	FN: Microporasil	96
	FR: Spherisorb-ODS	97
	FR: Ultrasphere-ODS	98
	FR: C-8 (RP-5)	99
	FR: Lichrosorb	100
	FR: Spherisorb C-6	101
	FR: PI: Zorbax C-8	102
	FR: Fen	103
	FR: LC-18	104
	FR: ODS-Si e Si	105
	FR: Porasil/OPN	50
	FR: C-18 e partisil	77

Classe de substância	Fase estacionária	Ref.
3. Antipsicóticos e outros fenotiazínicos e/ou metabólitos	FR: C-18	106, 107
	FR: CN	108, 109
	FN: Silica	110
4. Antidepressivos tricíclicos: imipramínicos e/ou metabólitos	FN: Silica-10	111
	FR: CN	109, 112, 113, 114, 115
	FN- Silica-60	116, 117, 118
	FR: S110 e partisil	119
	FN: Silica	67, 118, 120
	FN: C-18	121
	FR: Hypersil-ODS	122
	FR: MCH-10	123
	FR: Ultrasphere-ODS	124
	FR: Silica-C-8	125
	FR: C-18	126, 127, 128
	FR: RP-18 e C-8	41, 129
	FR: Partisil-ODS	130
	FN: CN	131
	várias	80, 132
	FR: C-18 e partisil	77
FN: Mercksorb SI e Silica	83	
FR: ODS	133	

Classe de substância	Fase estacionária	Ref.
5. Analgésicos, antipiréticos e antiinflamatório e/ou metabólitos	FR: C-18	69,155,164,165,166, 167,168,169,170,171
	FR: ODS-2	172,173
	FN: Silica	174
	FR: ODS-5	75,175,176,177
	FR: C-8	67,178
	FR: ODS	179
	FR: PI: C-18	180
	FN: Porasil A	181
	FR: Spherisorb-C-6	52
	FR: C-18 e Partisil	77,83
	FR: PI: Vydac	81
	FN: TA:SAX e Zipax SAX	158
	FN: Lichrosorb SI-60	182
	FR: Hypersil-ODS	183
6. Narcóticos analgésicos e anti espasmódicos: alcalóides do ópio e seus derivados e/ou metabólitos	FR: ODS	179,184
	FR: C-18	65,68,83,163,167,170, 185,186

Classe de substância	Fase estacionária	Ref.
	FR: S5NH <sub>2</sub>	187
	FN: S5NH <sub>2</sub>	188
	FR: ODS-3	189
	FN: Spherisorb S5W	190
	FR: PI: C-18	84,191,192
	FR: Partisil-6	156
	FR: C-18 e Partisil	77
	várias	78,79,157
	FN: S5 Vydac	81
	FR: Partisil-5	160
	FR: Spherisorb	161
7. Simpatomiméticos e outras aminas estimulantes do SNC ou metabólitos		
7.1. Aminas simpatomiméticas	FR: C-18	65,66,68,152,153, 154,155
	FR: Partisil-6	156
	FR: C-18 e Partisil	77
	várias	78,79,157
	FN: Corasil	81
	FN:TC: Zipax SCX	158
	FN: Partisil-5	159,160
	FR: PI:C-18	84
	FR: Spherisorb	161
	FN: Nucleosil Silica-50	162
	FR: C-18	163
	FR: Partisil-5	160

Classe de substância	Fase estacionária	Ref.
7.2. Xantinas e/ou metabólitos	FR: ODS-2	172
	FR: C-18	41,65,69,155,166,171
		195,196
	FN: Hypersil-ODS	75,197
	FN: Silica	198,199
	FR: P I: C-18	200
	várias	42,80,157
	FR: Partisil-6	156
	FR: C-18 e Partisil	77
	FR: TI: ODS-5	177
	FN: Corasil II	81
	FR: Lichrosorb RP-18	201
	FR: C-8	41
8. Anestésicos locais e/ou metabólitos	FN: Partisil-10	193
	FR: C-18	155,194,195
	FR: ODS-3	189
	FR: C-18 e Partisil	77
	várias	78,79,157
	TI: ODS-5	177
	FR: Partisil-5	160



Classe de substância	Fase estacionária	Ref.
9. Outro		
Ac. Hipúrico	FR: C-18	202
	FR: Shimadzu PC-8	203

FN: Fase normal

FR: Fase reversa

PI: Par de íons

TI: Troca de íons

TA: Troca de ânions

TC: Troca de cátions

### 3. ISOLAMENTO DE PADRÕES DE FÁRMACOS

Para obter os padrões a serem usados nas análises, dispúnhamos de dois caminhos alternativos: importação ou isolamento a partir de alguma fonte natural ou sintética.

Embora a segunda alternativa, a de isolamento, representasse um caminho muito mais difícil tivemos que optar por ela por diversas razões, dentre as quais se destacam:

- a) dificuldades de importação existentes no país, especialmente de produtos como drogas de abuso sujeitas a controles muito rigorosos.
- b) elevado preço dos padrões a serem adquiridos.
- c) lapso de tempo muito grande, talvez maior que o disponível para realizar o presente trabalho, entre o pedido de importação na CACEX e a chegada da droga no laboratório.

Face ao exposto, mediante receita médica, adquirimos nas farmácias locais, fármacos que figuram na Farmacopéia Brasileira como agentes de "doping". A partir deles obtivemos pequenas quantidades dos princípios ativos, os quais foram usados na obtenção dos perfis cromatográficos e espectrométricos a serem incorporados a biblioteca. A tabela II relaciona nome do composto, peso molecular, fórmula molecular, medicamento de onde foi isolado e técnicas usadas na caracterização do grau de pureza do material isolado.

Os detalhes envolvidos na obtenção dos fármacos constantes da Tabela II, p. 16, são descritos na parte experimental ( Cap. 8) do trabalho e no capítulo 6 destinado a resultados e discussão.

Tabela II. Relação do nome da droga, peso molecular, fórmula molecular, medicamento de origem e técnicas de caracterização usadas.

Nome do composto	Peso molecular	Fórmula molecular	Medicamento de origem	Técnica de caracterização usada
Acetaminofen	151	$C_8H_9NO_2$	Tylenol	UV, CLAE, CG-EM
Acetanilida	135	$C_8H_9NO$	Antifebrin	UV, CLAE, CG-EM
Ac. Acetilsalicílico	180	$C_9H_8O_4$	Aspirina	CP, CLAE, CG-EM
Ac. hipúrico	179	$C_8H_7NO_3$	-	CLAE, CG-EM
Ac. nicotínico	123	$C_6H_5NO_2$	Niacin	CP, CLAE, CG-EM
Alobarbital	208	$C_{10}H_{12}N_2O_3$	Asmac, Dial	CP, CLAE, CG-EM
Aminofenazona*	231	$C_{13}H_{17}N_3O$	-	CP, CLAE, CG-EM
Amitriptilina	277	$C_{20}H_{23}N$	Tryptanol	CP, CLAE, CG-EM
Anfetamina**	135	$C_9H_{13}N$	-	CP, CLAE, CG-EM
Bromazepan	316	$C_{14}H_{10}BrN_3O$	Lexotan	CP, CLAE, CG-EM
Butalbital	224	$C_{11}H_{16}N_2O_3$	Tonopan	CP, CLAE, CG-EM
Cafeína	194	$C_8H_{10}N_4O_2$	-	CP, CLAE, CG-EM
Clordiazepóxido*	299	$C_{16}H_{14}ClN_3O$	-	CP, CLAE, CG-EM
Clorimipramina	314	$C_{19}H_{23}ClN_2$	Anafranil	CP, CLAE, CG-EM
Diazepan	284	$C_{16}H_{13}ClN_2O$	Valium	CP, CLAE, CG-EM
Dipiridamol	504	$C_{24}H_{40}N_8O_4$	Persantin	CP, CLAE
Fenacetina	179	$C_{10}H_{13}NO_2$	-	CLAE, CG-EM
Fencanfamina	215	$C_{15}H_{21}N$	Reactivan	CP, CLAE, CG-EM
Fenilpropanolamina	151	$C_9H_{13}NO$	Descon, Naldecon	CP, CLAE



Nome do composto	Peso molecular	Fórmula molecular	Medicamento de origem	Técnica de caracterização usada
Fenitoína*	252	$C_{15}H_{12}N_2O_2$	-	CP, CLAE, CG-EM
Fenobarbital	232	$C_{12}H_{12}N_2O_3$	Gardenal	CP, CLAE, CG-EM
Flufenazina	437	$C_{22}H_{26}F_3N_3OS$	Anatensol	CP, CLAE, CG-EM
Flurazepan	387	$C_{21}H_{23}ClFN_3O$	Dalmadorm	CP, CLAE, CG-EM
Imipramina	280	$C_{19}H_{24}N_2$	Tofranil	CP, CLAE, CG-EM
Levomepromazina	328	$C_{19}H_{24}N_2OS$	Neozine	CP, CLAE, CG-EM
Lorazepan	321	$C_{15}H_{10}Cl_2N_2O_2$	Lorax	CP, CLAE, CG-EM
Mazindol*	284	$C_{16}H_{13}ClN_2O$	-	CP, CLAE
Medazepan	270	$C_{16}H_{15}ClN_2$	Diepin	CP, CLAE, CG-EM
Nafazolina	210	$C_{14}H_{14}N_2$	Privina	CP, CLAE
Nicotina	162	$C_{10}H_{14}N_2$	-	CP, CLAE, CG-EM
Nitrazepan	281	$C_{15}H_{11}N_3O_3$	Mogadon	CP, CLAE, CG-EM
Papaverina	339	$C_{20}H_{21}NO_4$	Nicopaverina	CP, CLAE, CG-EM
Propifenazona*	230	$C_{14}H_{18}N_2O$	-	CP, CLAE
Propoxifeno*	339	$C_{22}H_{29}NO_2$	-	CP, CLAE, CG-EM
Sulpiride	341	$C_{15}H_{23}N_3O_4S$	Equilid	CP, CLAE
Trihexafenidil	301	$C_{20}H_{31}NO$	-	CP, CLAE

\* padrões cedidos pela Profa. Helena Lutêscia Luna Coelho do Departamento de Farmácia.

\*\* padrão cedido pela Profa. Gisela Costa Camarão do Departamento de Fisiologia e Farmacologia.



#### 4. PROTOCOLO PARA IDENTIFICAÇÃO DE DROGAS POR COMPUTADOR USANDO DADOS CROMATOGRÁFICOS E ESPECTROMÉTRICOS.

Tendo que trabalhar com os perfis cromatográficos e espectrométricos dos padrões obtidos e não com os padrões propriamente ditos, é natural que a reprodutibilidade dos resultados experimentais seria mais facilmente obtida se dispusessemos de programas e arquivos para computador que facilitassem a tarefa de análise e interpretação dos mesmos.

Isto é particularmente importante para o exame "anti-doping", principalmente nos casos de resultados positivos, sujeitos a ampla divulgação pelos órgãos de imprensa falada e escrita. Um equívoco pode causar enormes prejuízos para as pessoas físicas e jurídicas envolvidas, e para o laboratório responsável pela análise.

Por outro lado não se justificaria que a análise original (prova) e a sua confirmação (contra-prova), feitas pela mesma instituição viesse a fornecer resultados diferentes. Não haveria razões para tanto, uma vez que o material da contra-prova deve ser conservado em condições que excluam a possibilidade de contaminação ou de deterioração.

Por todas essas razões optamos por usar técnicas instrumental que assegurassem a reprodutibilidade dos dados obtidos sem a preocupação de que eles pudessem representar para o resultado da análise. Eles seriam correlacionados por computadores pela adoção de caminhos e critérios uniformes, com a menor

interferência possível de fatores de ordem emocional introduzidas por pré-julgamento.

A Tabela III mostra as entradas relacionadas para serem incorporadas à biblioteca de padrões com suas respectivas fórmulas e com os metabólitos urinários correspondentes.

A Tabela IV mostra o que já foi efetivamente implementado na biblioteca com os dados até agora disponíveis.

A existência de mais de uma entrada na biblioteca para o mesmo fármaco decorre da variação das condições experimentais de algumas medidas que foram incorporadas ao processo de comparação.

Existem dentre as entradas efetivamente incorporadas a biblioteca, algumas onde o valor "999" por nós arbitrado substitui o valor real. Este artifício de programação, tem, no caso específico, o objetivo de evitar a comparação de um dado da biblioteca com aquele valor, com o dado correspondente da amostra problema. Nestes casos a comparação seria transferida para o próximo dado.

As figuras 1, 2 e 3 são cópias dos programas para computador, implementados para incorporar entradas à base de dados, operar a leitura de entradas existentes e realizar pesquisa de um ou mais dados na biblioteca, comparando-os com os encontrados na substância-problema.

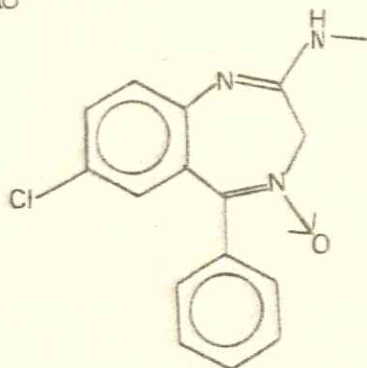
A linguagem, características dos microcomputadores e tipos de suportes usados na implementação dos dados na biblioteca, são descritos na seção experimental.

Tabela III. Fármacos e seus metabólitos

Classe do fármaco	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
1. Ansiolíticos benzodiazepínicos <sup>31</sup>		
Bromazepan		3-hidroxibromazepan 2-(2-amino-5-bromo-benzoil)-piridina 2-(2-amino-5-bromo-3-hidroxibenzoil)piridina
Camazepan		N-metilclorazepan
Clonazepan		7-aminoclorazepan 7-acetamidoclorazepan 3-hidroxiclorazepan 7-amino-3-hidroxiclorazepan
Clorazepato de dipotássio		Nordiazepan oxazepan

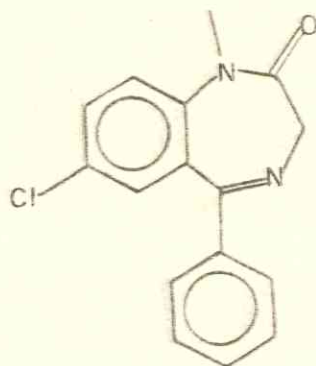
Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
------	---------	---

Clordiazepóxido



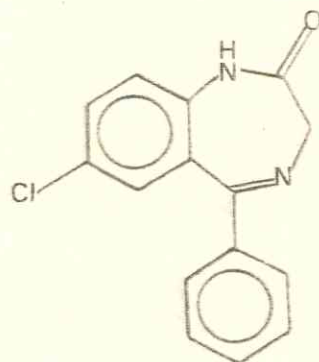
Desmetilclordiazepóxido  
Demoxepan  
Nordiazepan

Diazepan



Temazepan  
Nordiazepan  
Oxazepan

Desmetildiazepan

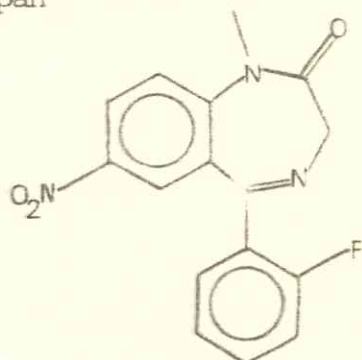


Nordiazepan  
Oxazepan



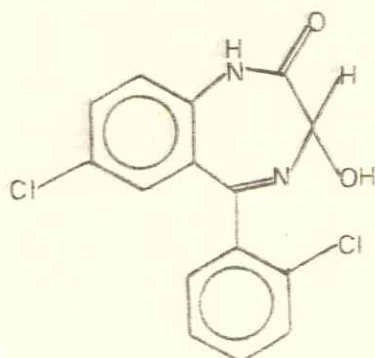
Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
------	---------	---

Flunitrazepan



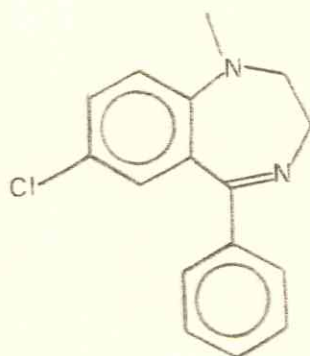
Norflunitrazepan  
(maior metabólito)  
Flunitrazepan  
7-aminoflunitrazepan  
3-hidroxiflunitrazepan

Lorazepan



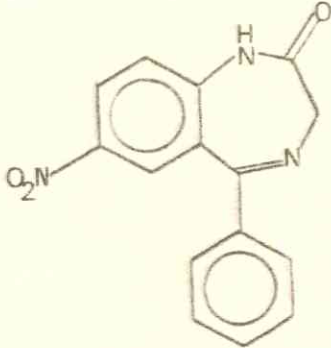
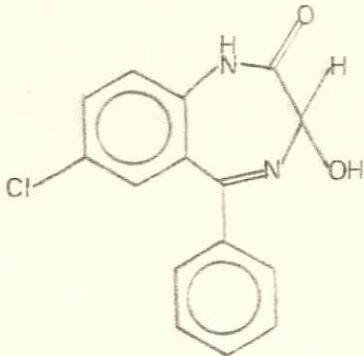
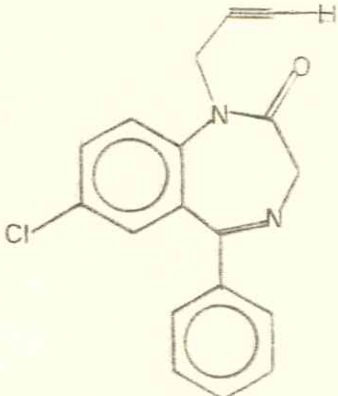
Quase não metabolizado  
mas excretado como glu-  
curonídeos

Medazepan



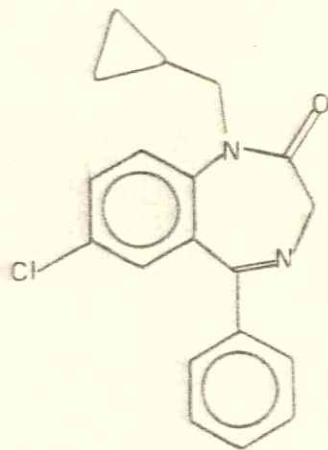
Oxazepan (maior metabó-  
lito)  
Diazepan  
Normedazepan  
Nordiazepan  
Deshidromedazepan



Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Nitrazepan		2-amino-5-nitrobenzo- fenona 2-amino-3-hidroxi-5- nitrobenzofenona 7-aminonitrazepan 7-acetamidonitrazepan
Oxazepan		Não metabolizado mas excretado como glu- curonídeo
Pinazepan		Nordiazepan Oxazepan (maior meta- bólito) 2-hidroxi-pinazepan

Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
------	---------	---

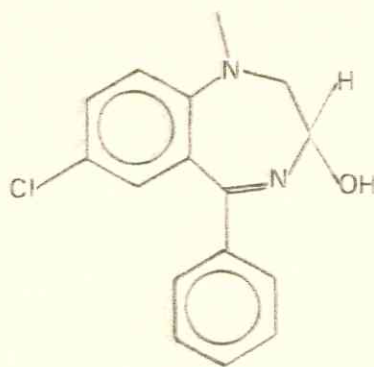
Prazepan



Nordiazepan

Oxazepan

Temazepan



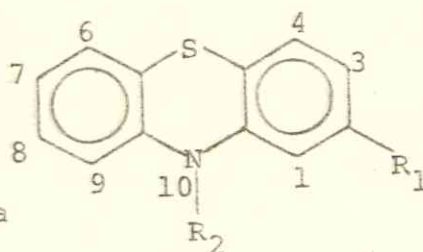
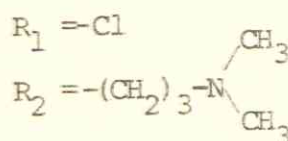
Oxazepan

Temazepan

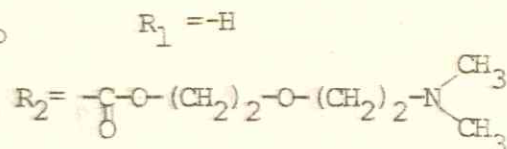
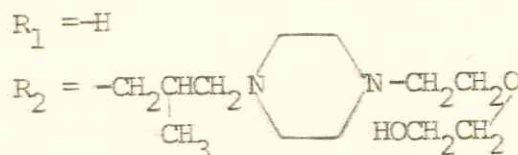
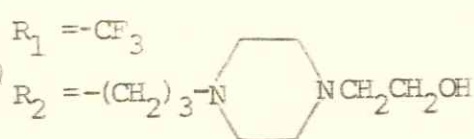
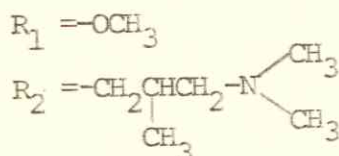
Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
------	---------	--

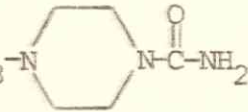
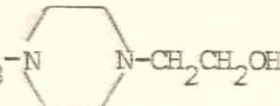
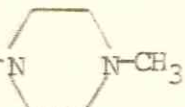
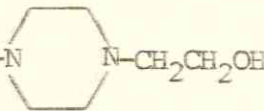
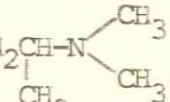
## 2. Antipsicóticos e derivados da fenotiazina

Esqueleto


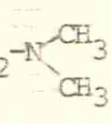
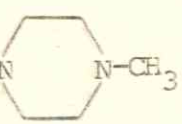
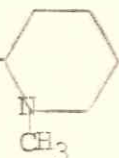
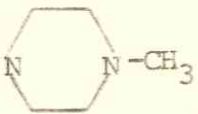
Clorpromazina  
(cloridrato)7-hidroxiclorpromazina  
3-hidroxiclorpromazina  
conjugação com ácido glicurônico  
formação de sulfóxidos

Dimetossanato

3-hidroxdimetossanato  
7-hidroxdimetossanatoDixirazina<sup>v</sup>3-hidroxdixirazina  
7-hidroxdixirazina  
conjugação com ácido glicurônico  
formação de sulfóxidosFlufenazina  
(dicloridrato)3-hidroxi flufenazina  
7-hidroxi flufenazina  
conjugação com ácido glicurônico  
formação de sulfóxidosLevomepromazina  
(cloridrato)3-hidroxi levomepromazina  
7-hidroxi levomepromazina  
conjugação com ácido glicurônico  
formação de sulfóxidos

Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Metopimazina	$R_1 = -SO_2CH_3$ $R_2 = -(CH_2)_3-N$ 	3-hidroxi metopimazina 7-hidroxi metopimazina conjugação com ácido glicurônico formação de sulfóxidos
Omofenazina (diclorato)	$R_1 = -CF_3$ $R_2 = -(CH_2)_3-N$ 	3-hidroxi omofenazina 7-hidroxi omofenazina conjugação com ácido glicurônico formação de sulfóxidos
Percloperazina	$R_1 = -Cl$ $R_2 = -(CH_2)_3-N$ 	3-hidroxi percloperazina 7-hidroxi percloperazina conjugação com ácido glicurônico formação de sulfóxidos
Perfenazina	$R_1 = -Cl$ $R_2 = -(CH_2)_3-N$ 	3-hidroxi perfenazina 7-hidroxi perfenazina conjugação com ácido glicurônico formação de sulfóxidos
Prometazina	$R_1 = -H$ $R_2 = -CH_2CH-N$ 	3-hidroxi prometazina 7-hidroxi prometazina conjugação com ácido glicurônico formação de sulfóxidos

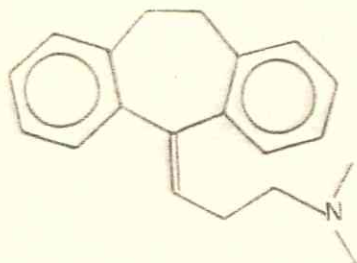


Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Propericiazina	$R_1 = -CN$ $R_2 = -(CH_2)_3-N$ 	3-hidroxipropericiazina 7-hidroxipropericiazina conjugação com ácido glicurônico formação de sulfóxidos
Propiomazina (maleato ácido)	$R_1 = -C(=O)C_2H_5$ $R_2 = -CH_2CH(CH_3)CH_2-N(CH_3)_2$ 	3-hidroxiopropiomazina 7-hidroxiopropiomazina conjugação com ácido glicurônico formação de sulfóxidos
Tietilperazina	$R_1 = -SC_2H_5$ $R_2 = -(CH_2)_3-N$ 	3-hidroxitietilperazina 7-hidroxitietilperazina conjugação com ácido glicurônico formação de sulfóxidos
Tioridazina	$R_1 = -SCH_3$ $R_2 = -CH_2CH_2-N$ 	Nor-tioridazina tioridazina-2-sulfona tioridazina-5-sulfóxido, nor-tioridazina-2-sulfóxio tioridazina-2-sulfóxido
Trifluoperazina	$R_1 = -CF_3$ $R_2 = -(CH_2)_3-N$ 	3-hidroxitrifluoperazina 7-hidroxitrifluoperazina conjugação com ácido glicurônico formação de sulfóxidos

Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
------	---------	---

3. Antidepressivos imipramínicos e derivados da fenotiazina

Amitriptilina



Amitriptilina

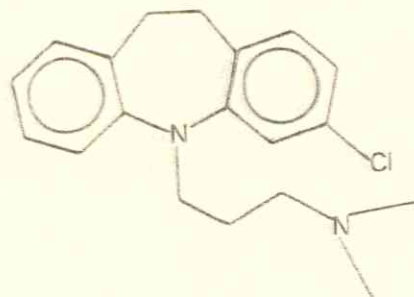
10-hidroxiamitriptilina

Nortriptilina

10-hidroxinortriptilina

2-hidroxiamitriptilina  
conjugado com o ácido  
glicurônico

Clorimipramina



clomipramina

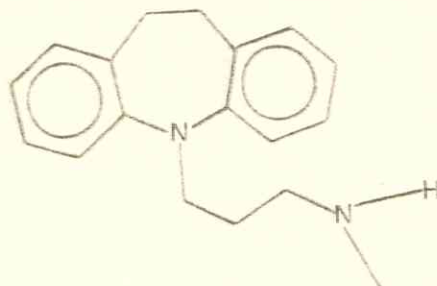
desmetilclomipramina

N-óxidoclomipramina

2-hidroxiclomipramina

2-hidroxiclomipramina  
conjugado com o ácido  
glicurônico

Desipramina



desipramina

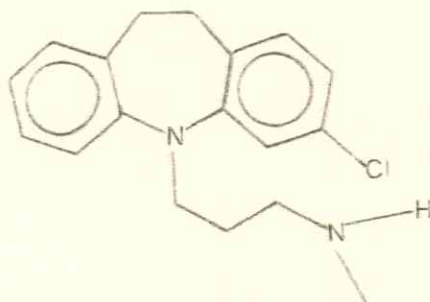
desmetildesipramina

N-óxido desipramina

2-hidroxidesipramina

2-hidroxidesipramina  
conjugado com o ácido  
glicurônico

Desmetilclomipramina



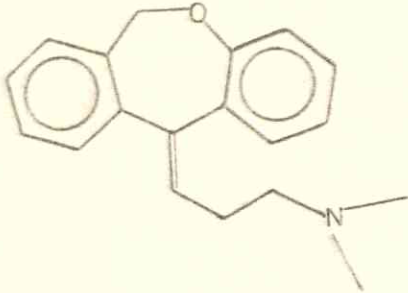
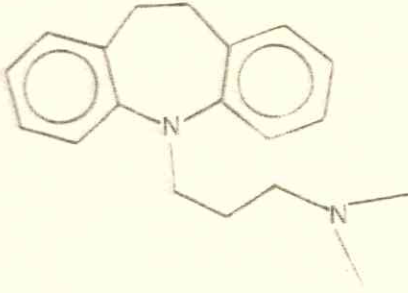
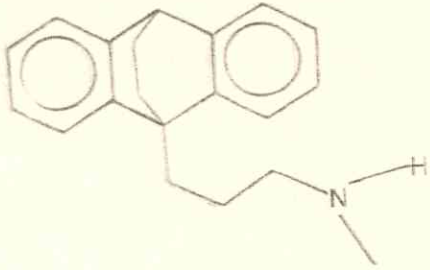
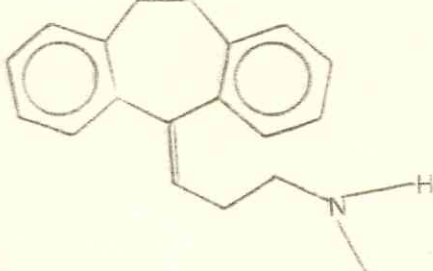
desmetilclomipramina

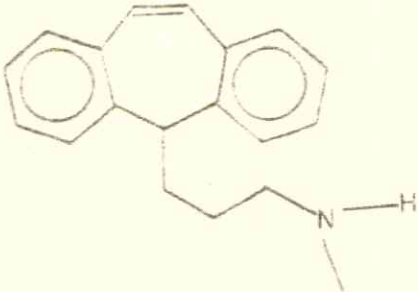
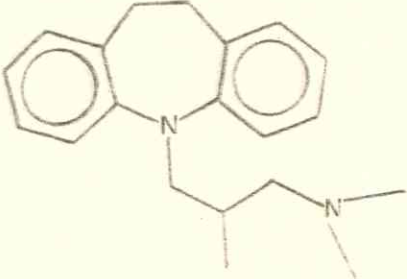
nordesmetilclomipra-  
mina

N-óxido desmetilclomi-  
pramina

2-hidroxiclomiprami-  
na conjugado com áci-  
do glicurônico

2-hidroxiclomipramina

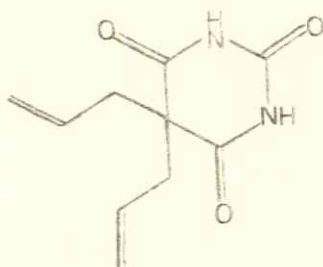
Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Dibenzoxepina (doxepin)		Dibenzoxepina Desmetildibenzoxepina N-óxidodibenzoxepina 2-hidroxidibenzoxepina 2-hidroxidibenzoxepina conjugado com ácido glicurônico
Imipramina		Didesmetilimipramina Desmetilimipramina 2-hidroxiimipramina 10-hidroxiimipramina 10-hidroxidesmetilimipramina 2-hidroxidesmetilimipramina
Maprotilina		Maprotilina Desmetilmaprotilina N-óxidomaprotilina 2-hidroxiaprotilina 2-hidroxiaprotilina conjugado com ácido glicurônico
Nortriptilina		Nortriptilina 10-hidroxinortriptilina 10-hidroxinortriptilina conjugado com ácido glicurônico 2-hidroxiortriptilina

Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Protriptilina		Protriptilina Desmetilprotriptilina N-óxido protriptilina 2-hidroxiprotriptilina 2-hidroxiprotriptilina conjugado com o ácido glicurônico
Trimipramina		Trimipramina Desmetiltrimipramina N-óxido trimipramina 2-hidroxitrimipramina 2-hidroxitrimipramina conjugado com o ácido glicurônico

#### 4. Anticonvulsivantes: barbitúricos e não-barbitúricos

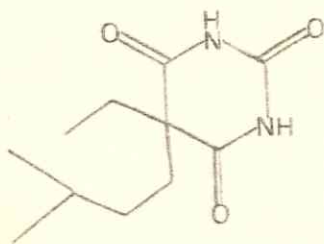
##### 4.1. Barbitúricos

Alobarbital



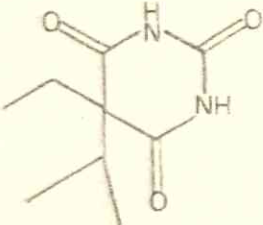
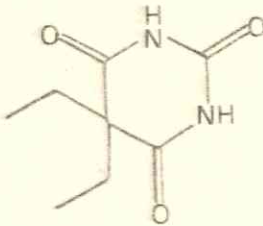
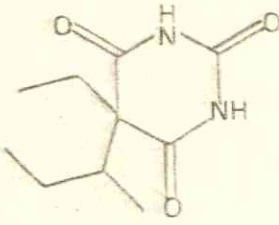
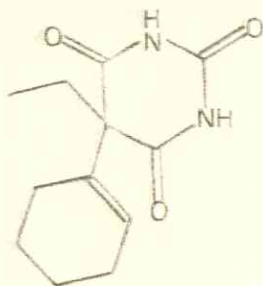
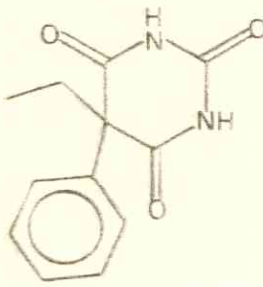
quase não metabolizado

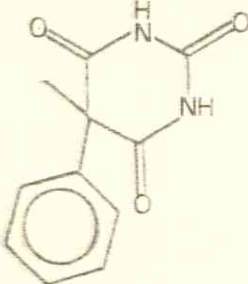
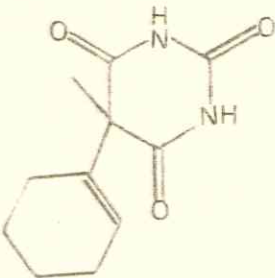
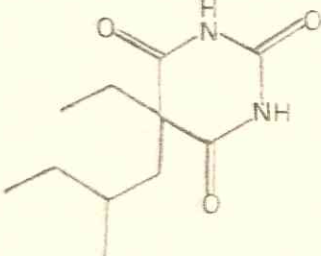
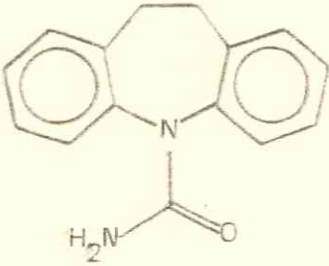
Amobarbital

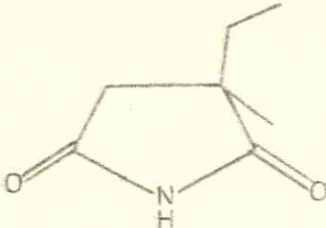
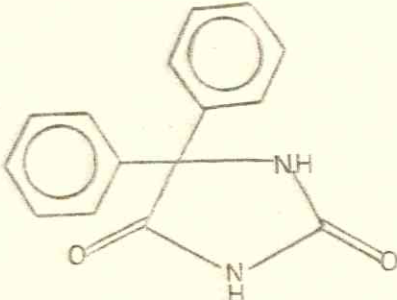
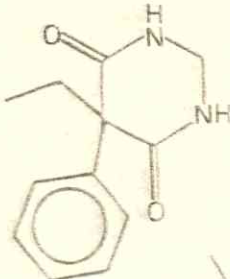
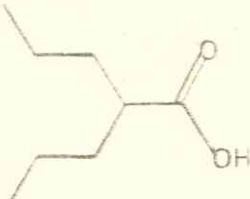
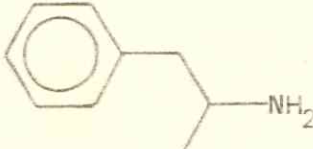


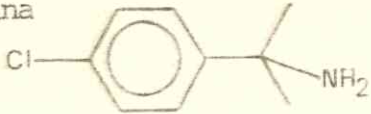
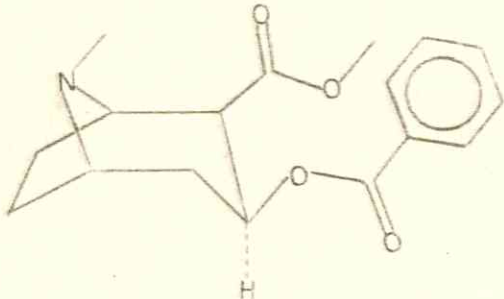
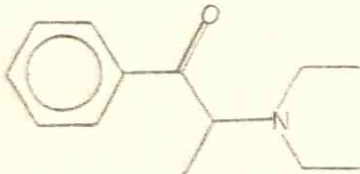
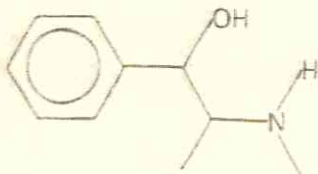
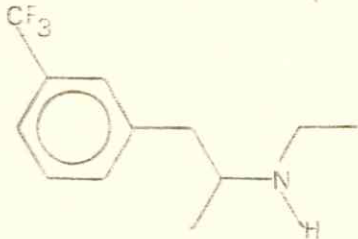
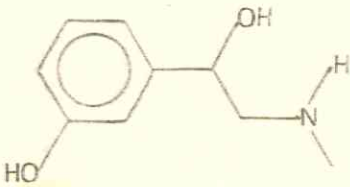
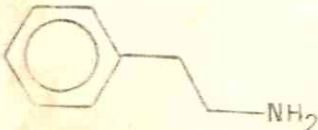
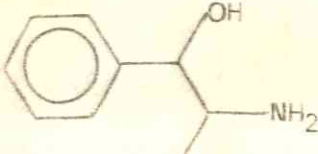
Ac. 5-etilhidroximetil-  
butilbarbitúrico  
derivado glicurônico



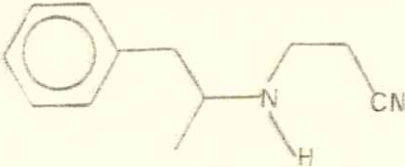

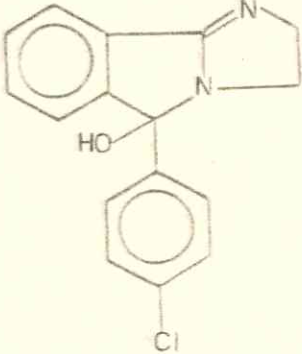
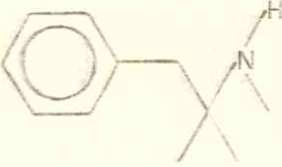
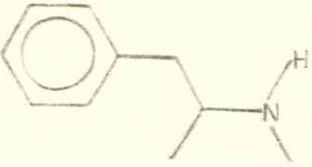
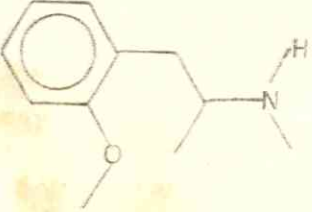
Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Aprobarbital		Aprobarbital (50%)
Barbital		Barbital (65 a 90%) Hidroxibarbital Ác. 5-etilbarbitúrico Hidroxibarbitalglucuro nídeo
Butobarbital		Oxidação dos radicais em C <sub>5</sub> , abertura do anel barbitúrico (entre 1 e 6)
Ciclobarbital		Oxidação dos radicais em C <sub>5</sub> , abertura do anel barbitúrico (entre 1 e 6)
Fenobarbital		Fenobarbital (50%) P-hidroxifenobarbital P-hidroxifenobarbital glucuronídeo N-hidroxifenobarbital

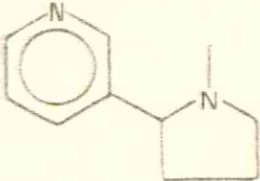
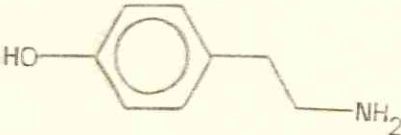
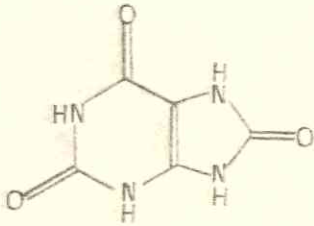
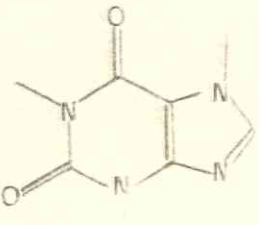
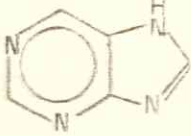
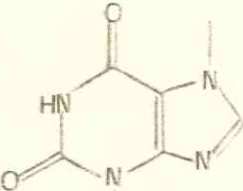
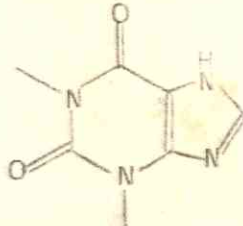
Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Heptobarbital		Oxidação dos radicais em C <sub>5</sub> abertura do anel barbitúrico (entre 1 e 6)
Hexobarbital		Nor-hexobarbital ceto-hexobarbital ceto nor-hexobarbital
Pentobarbital		Ac. carboxílico do pentobarbital cetopentobarbital hidroxipentobarbital-glucuronídeo
4.2. Não-barbitúricos		
Carbamazepina		2-hidroxicarbamazepina carbamazepina-10,11-epóxido Trans-10,11-dihidroxi-10,11-dihidrocarbamazepina 3-hidroxicarbamazepina 1-hidroxicarbamazepina 9-hidroximetil-10-carbamoilacridan

Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Etossuximida		etossuximida (10-20%) 2-hidroxi-etil-2-metil-succinamida
Fenitoína		5-(4-hidroxifenil)-5-fenilhidantoína 5-(3-hidroxifenil)-5-fenilhidantoína 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-5-fenilhidantoína
Primidona		Fenobarbital Feniletilmalonamida p-hidroxifenobarbital
Valproato (ácido valpróico)		
5. Simpatomiméticos e outras aminas estimulantes do SNC		
5.1. Aminas simpatomiméticas		
Anfetamina		Nor-efedrina p-hidroxianfetamina p-hidrox nor-efedrina ac. benzóico ac. hipúrico benzilmetilcarbinol glucuronídeo da p-hidro xianfetamina glucuronídeo do benzilme tilcarbinol

Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Clorfentermina		
Cocaína		benzoilecgonina ecgonina ác. hipúrico
Dietilpropiona		2-etilaminopropiofenona na 1-fenil-2-etilamina- 1-propanol 2-aminopropiofenona 1-fenil-2-amino-1-pro- panol
Efedrina		p-hidroxi-efedrina nor-efedrina
Fenfluramina		Nor-fenfluramina p-hidroxi-fenfluramina
Fenilefrina		p-hidroxi-fenilefrina nor-fenilefrina
Feniletilamina		p-hidroxi-feniletila- mina
Fenilpropanolamina		p-hidroxi-fenilpropano- lamina.

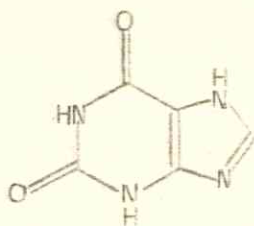


Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Fenproporex		Anfetamina p-hidroxifenproporex
Fentermina		p-hidroxifentermina
Mazindol		
Mefentermina		fentermina hidroxifentermina p-hidroximefentermina glucuronídeo da p-hidroximefentermina
Metanfetamina		anfetamina p-hidroximetanfetamina
Metoxifenamina		p-hidroximetoxifenamina nor-metoxifenamina

Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Nicotina		Cotinina desmetilcotinina hidroxicotinina ácido-3-piridilacético
Tiramina		
5.2. Xantinas		
Ácido úrico		
Cafeína		ácido 1-metilúrico 1-metilxantina 1,7-dimetilxantina 7-metilxantina ácido 1,3-dimetilúrico
Purina		
Teobromina		3-metilxantina 7 -metilxantina ácido 7-metilúrico
Teofilina		ácido 1,3-dimetilúrico 3-metilxantina ácido 1-metilúrico

Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
------	---------	---

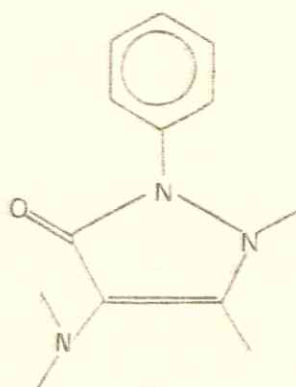
Xantina



## 6. Analgésicos antipiréticos e antiinflamatórios:

## 6.1. Derivados da pirazolona

Aminofenazona

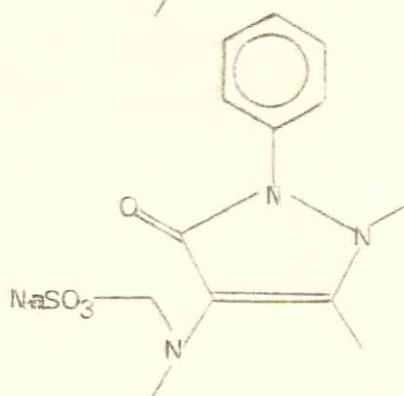


dipirona

4-hidroxiaminofenazona

na conjugado com ácido glucurônico

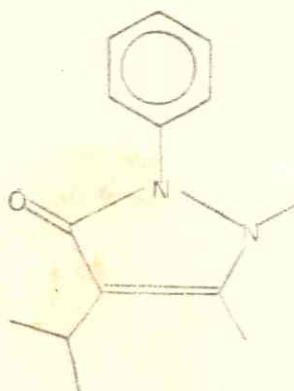
Dipirona



4-hidroxidipirona

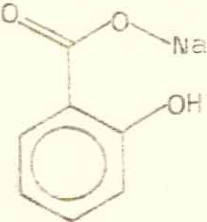
4-hidroxidipirona conjugado com o ácido glicurônico

Propifenazona



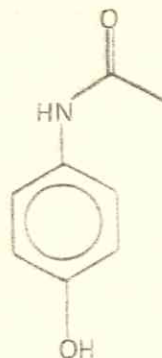
4-hidroxipropifenazona

4-hidroxipropifenazona conjugado com ácido glucurônico

Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Salicilato de sódio		Ácido salicílico (10%) ácido salicílico (75%) glicuronetos salicílicos fenólicos (10%) glicuronetos salicílicos de acila (5%) ácido genticóico (1%)

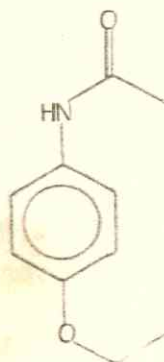
## 6.3. Derivados do p-aminofenol

Acetaminofen  
(paracetamol)



Acetaminofen (3%)  
 conjugação com ácido  
 glicurônico (80%)

Fenacetina

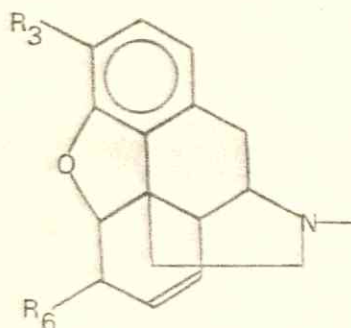


Parafenetidina  
 acetaminofen (75-80%)

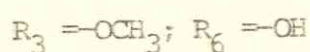


Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
------	---------	---

7. Narcóticos analgésicos e antiespasmódicos: alcalóides do ópio e seus derivados

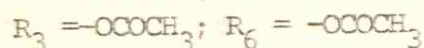


Codeína



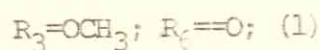
Morfina (10%)  
morfina 3-glicuroní-  
deo  
nor-codeína

Heroína

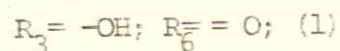


6-monoacetilmorfina  
morfina-3-glicuroní-  
deo  
morfina

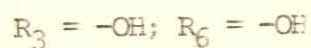
Hidrocodona



Hidromorfina

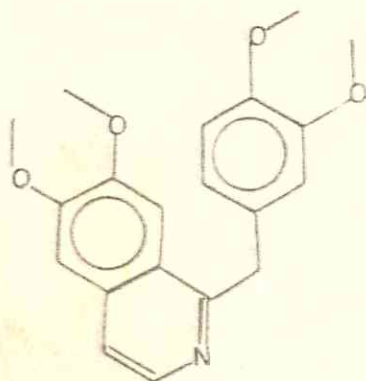


Morfina



nor-morfina  
morfina 3-glicuroní-  
deo  
codeína  
4-hidroxi papaverina  
(40%)  
papaverina 4-glicuro-  
nídeo

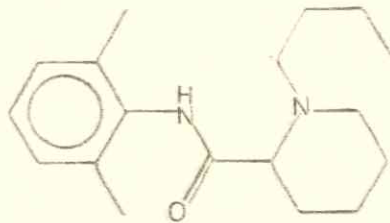
Papaverina



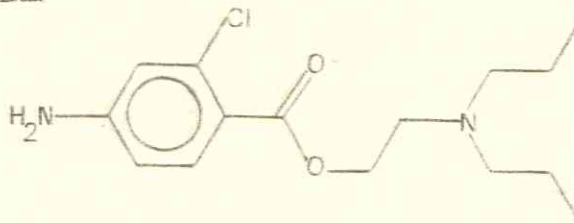
Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
Propoxifeno	$  \begin{array}{c}  \text{CH}_3 \quad \text{OOCCH}_2\text{CH}_3 \\    \quad / \\  (\text{CH}_3)_2\text{NCH}_2\text{CH}-\text{C}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5 \\    \\  \text{C}_6\text{H}_5  \end{array}  $	Nor-propoxifeno
(1) ligação única em vez de dupla entre C <sub>7</sub> e C <sub>8</sub>		

## 8. Anestésicos locais

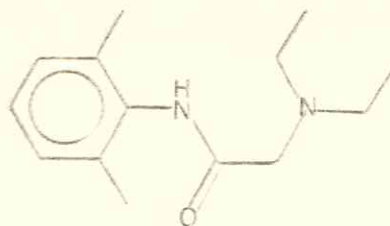
Bupivacaína



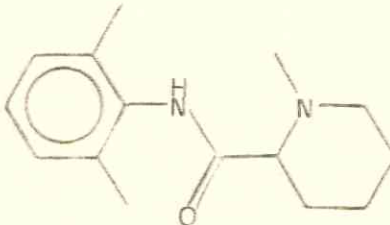
Cloroprocaína



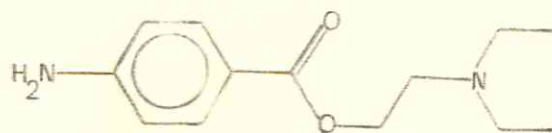
Lidocaína



Mepivacaína



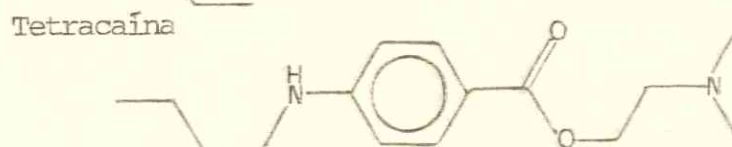
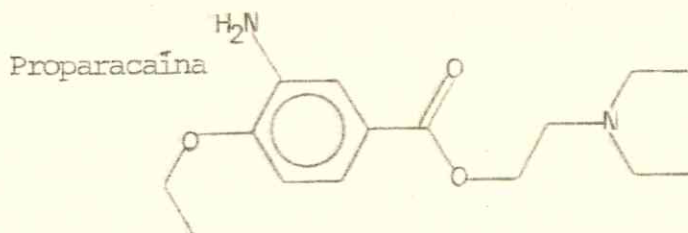
Procaína



Monoetilglicina  
xilidida  
4-hidroxi-2,6-dimetil-  
tilanilina

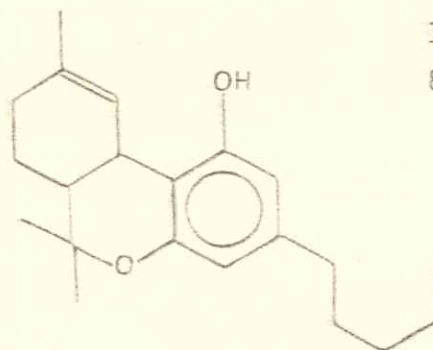
Ác. p-aminobenzóico  
Ác. 4-acetamidoben-  
zóico  
dietilaminoetanol

Nome	Fórmula	Metabólitos urinários (livre ou conjugado)
------	---------	---



9. Alucinógeno canabinoide presente na maconha

Maconha  
(tetraidrocanabinol)  
( $\Delta^9$ -THC)



$\Delta^9$ -THC  
11-hidroxi- $\Delta^9$ -THC  
8,11-dihidroxi-THC

**ENTRADA : 1**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO NICOTINICO  
PESO MOLECULAR : 123  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 71  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: MF  
RF-C L A E : 10.5  
SOLVENTE CLAVE F15  
PICO BASE EM : 79  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 52  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 78  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 51

**ENTRADA : 2**

NOME DA SUBSTANCIA: AMINOFENAZONA  
PESO MOLECULAR : 231  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 70  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: R)  
RF-C L A E : 29.4  
SOLVENTE CLAVE F4  
PICO BASE EM : 56  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 231  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 97  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 111

**ENTRADA : 3**

NOME DA SUBSTANCIA: ANFETAMINA  
PESO MOLECULAR : 135  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
COR: 999  
RF-C L A E : 5.7  
SOLVENTE CLAVE F15  
PICO BASE EM : 44  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 81  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 39  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 65

**ENTRADA : 4**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO HIPURICO  
PESO MOLECULAR : 179  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
COR: 999  
RF-C L A E : 3.75  
SOLVENTE CLAVE F5  
PICO BASE EM : 105  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 75  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 161  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 117

## ENTRADA : 5

NOME DA SUBSTANCIA: CLORDIAZEPOXIDO  
PESO MOLECULAR : 299  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 82  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RP1  
COR: RX  
RF-C L A E : 10.5  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM : 282  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 283  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 284  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 299

## ENTRADA : 6

NOME DA SUBSTANCIA: CLORDIAZEPOXIDO  
PESO MOLECULAR : 299  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 82  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RP1  
COR: RX  
RF-C L A E : 7.8E+15  
SOLVENTE CLAE F15  
PICO BASE EM : 282  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 283  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 284  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 299

## ENTRADA : 7

NOME DA SUBSTANCIA: PENILPROPANOLAMINA  
PESO MOLECULAR : 151  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
COR: 999  
RF-C L A E : 5.7  
SOLVENTE CLAE F15  
PICO BASE EM : 999  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999

## ENTRADA : 8

NOME DA SUBSTANCIA: FINITOINA  
PESO MOLECULAR : 250  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 91  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RP2  
COR: 999  
RF-C L A E : 8.55  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM : 180  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 104  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 252  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 223



**ENTRADA : 9**

NOME DA SUBSTANCIA: FENOBARBITAL  
PESO MOLECULAR : 232  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 44  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF2  
COR: AZV  
RF-C L A E : 4.8  
SOLVENTE CLAE F3  
PICO BASE EM : 204  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 117  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 115  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 77

**ENTRADA : 10**

NOME DA SUBSTANCIA: LORAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 321  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 92  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: BR  
RF-C L A E : 14.1  
SOLVENTE CLAE P4  
PICO BASE EM : 75  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 111  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 138  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 239

**ENTRADA : 11**

NOME DA SUBSTANCIA: MAZINDOL  
PESO MOLECULAR : 284  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 80  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RXC  
RF-C L A E : 9.9  
SOLVENTE CLAE F15  
PICO BASE EM : 999  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999

**ENTRADA : 12**

NOME DA SUBSTANCIA: NAFAZOLINA  
PESO MOLECULAR : 210  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 71  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RXC  
RF-C L A E : 9.9  
SOLVENTE CLAE P5  
PICO BASE EM : 999  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999

**ENTRADA : 13**

NOME DA SUBSTANCIA: NAPAZOLINA  
PESO MOLECULAR : 210  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL: 71  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RXC  
RF-C L A E : 5.85  
SOLVENTE CLAE F12  
PICO BASE EM : 999  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999

**ENTRADA : 14**

NOME DA SUBSTANCIA: NAPAZOLINA  
PESO MOLECULAR : 210  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL: 71  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RXC  
RF-C L A E : 9.6  
SOLVENTE CLAE F15  
PICO BASE EM : 999  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999

**ENTRADA : 15**

NOME DA SUBSTANCIA: PROPOFENAZONA  
PESO MOLECULAR : 230  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL: 95  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RXC  
RF-C L A E : 14.55  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM : 999  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999

**ENTRADA : 16**

NOME DA SUBSTANCIA: PROPOXIFENO  
PESO MOLECULAR : 339  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL: 84  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RXC  
RF-C L A E : 12  
SOLVENTE CLAE F15  
PICO BASE EM : 58  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 57  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 59  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 91



**ENTRADA : 17**

NOME DA SUBSTANCIA: TRJHEXAFENIDIL  
 PESO MOLECULAR : 301  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 88  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: 999  
 RF-C L A E : 13.5  
 SOLVENTE CLAE F15  
 PICO BASE EM : 999  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999

**ENTRADA : 18**

NOME DA SUBSTANCIA: WARFARINA  
 PESO MOLECULAR : 308  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: 999  
 RF-C L A E : 11.4  
 SOLVENTE CLAE F4  
 PICO BASE EM : 999  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999

**ENTRADA : 19**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO ACETILSALICILICO  
 PESO MOLECULAR : 180  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 84  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: 999  
 RF-C L A E : 4.5  
 SOLVENTE CLAE F4  
 PICO BASE EM : 120  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 138  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 92  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 121

**ENTRADA : 20**

NOME DA SUBSTANCIA: FLUFENAZINA  
 PESO MOLECULAR : 437  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 80  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: AMP  
 RF-C L A E : 13.95  
 SOLVENTE CLAE F15  
 PICO BASE EM : 42  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 280  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 70  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 56

**ENTRADA : 21**

NOME DA SUBSTANCIA: LEVOMEPRIMAZINA  
PESO MOLECULAR : 328  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 81  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: AMP  
RF-C L A E : 17.4  
SOLVENTE CLAE F12  
PICO BASE EM : 269  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 185  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 228  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 229

**ENTRADA : 22**

NOME DA SUBSTANCIA: LEVOMEPRIMAZINA  
PESO MOLECULAR : 328  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 81  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: AMP  
RF-C L A E : 38.1  
SOLVENTE CLAE F5  
PICO BASE EM : 269  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 185  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 228  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 229

**ENTRADA : 23**

NOME DA SUBSTANCIA: LEVOMEPRIMAZINA  
PESO MOLECULAR : 328  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 81  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: AMP  
RF-C L A E : 17.55  
SOLVENTE CLAE F15  
PICO BASE EM : 269  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 185  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 228  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 229

**ENTRADA : 24**

NOME DA SUBSTANCIA: DIAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 284  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 91  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: AZ  
RF-C L A E : 3.6  
SOLVENTE CLAE F1  
PICO BASE EM : 256  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 283  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 284  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 221



**ENTRADA : 25**

NOME DA SUBSTANCIA: DIAZEPAN  
 PESO MOLECULAR : 284  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 91  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: AZ  
 RF-C L A E : 7.5  
 SOLVENTE CLAE F3  
 PICO BASE EM : 256  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 283  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 284  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 221

**ENTRADA : 26**

NOME DA SUBSTANCIA: DIAZEPAN  
 PESO MOLECULAR : 284  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 91  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: AZ  
 RF-C L A E : 33.95  
 SOLVENTE CLAE F4  
 PICO BASE EM : 256  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 283  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 284  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 221

**ENTRADA : 27**

NOME DA SUBSTANCIA: DIAZEPAN  
 PESO MOLECULAR : 284  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 91  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: AZ  
 RF-C L A E : 4.35  
 SOLVENTE CLAE F2  
 PICO BASE EM : 256  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 283  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 284  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 221

**ENTRADA : 28**

NOME DA SUBSTANCIA: NITRAZEPAN  
 PESO MOLECULAR : 281  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 88  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: MR  
 RF-C L A E : 2.85  
 SOLVENTE CLAE F1  
 PICO BASE EM : 207  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 281  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 253  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 44.



**ENTRADA : 29**

NOME DA SUBSTANCIA: NITRAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 281  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 88  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: MR  
RF-C L A E : 3.6  
SOLVENTE CLAE F2  
PICO BASE EM : 207  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 281  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 253  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 44

**ENTRADA : 30**

NOME DA SUBSTANCIA: NITRAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 281  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 88  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: MR  
RF-C L A E : 3.9  
SOLVENTE CLAE F3  
PICO BASE EM : 207  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 281  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 253  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 44

**ENTRADA : 31**

NOME DA SUBSTANCIA: NITRAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 281  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 88  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: MR  
RF-C L A E : 13.5  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM : 207  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 281  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 253  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 44

**ENTRADA : 32**

NOME DA SUBSTANCIA: MEDAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 270  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 89  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: AMP  
RF-C L A E : 5.55  
SOLVENTE CLAE F1  
PICO BASE EM : 207  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 242  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 91  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 165

**ENTRADA: 33**

NOME DA SUBSTANCIA: MEDAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 270  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 89  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: AMP  
RF-C L A E : 9.45  
SOLVENTE CLAE F2  
PICO BASE EM : 207  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 242  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 91  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 165

**ENTRADA: 34**

NOME DA SUBSTANCIA: MEDAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 270  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 89  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: AMP  
RF-C L A E : 20.1  
SOLVENTE CLAE F3  
PICO BASE EM : 207  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 242  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 91  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 165

**ENTRADA: 35**

NOME DA SUBSTANCIA: LORAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 321  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 92  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: BR  
RF-C L A E : 3.3  
SOLVENTE CLAE F1  
PICO BASE EM : 75  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 111  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 138  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 239

**ENTRADA: 36**

NOME DA SUBSTANCIA: LORAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 321  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 92  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: BR  
RF-C L A E : 3.45  
SOLVENTE CLAE F2  
PICO BASE EM : 75  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 111  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 138  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 239

**ENTRADA : 37**

NOME DA SUBSTANCIA: LURAZEPAN  
 PESO MOLECULAR : 321  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 92  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 CUR: BR  
 RF-C L A E : 3.9  
 SOLVENTE CLAE F3  
 PICO BASE EM : 75  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 111  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 138  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 239

**ENTRADA : 38**

NOME DA SUBSTANCIA: LORAZEPAN  
 PESO MOLECULAR : 321  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 92  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 CUR: BR  
 RF-C L A E : 14.1  
 SOLVENTE CLAE F4  
 PICO BASE EM : 75  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 111  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 138  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 239

**ENTRADA : 39**

NOME DA SUBSTANCIA: FLURAZEPAN  
 PESO MOLECULAR : 387  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 79  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 CUR: AM  
 RF-C L A E : 24.6  
 SOLVENTE CLAE F1  
 PICO BASE EM : 86  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 99  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 87  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 58

**ENTRADA : 40**

NOME DA SUBSTANCIA: FLURAZEPAN  
 PESO MOLECULAR : 387  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 79  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 CUR: AM  
 RF-C L A E : 13.65  
 SOLVENTE CLAE F4  
 PICO BASE EM : 86  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 99  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 87  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 58



**ENTRADA : 41**

NOME DA SUBSTANCIA: BROMAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 316  
RF EM CROMATOGRRAFIA EM PAPEL : 86  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RS  
RF-C L A E : 5.25  
SOLVENTE CLAE F1  
PICO BASE EM : 236  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 207  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 78  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 77

**ENTRADA : 42**

NOME DA SUBSTANCIA: BROMAZEPAN  
PESO MOLECULAR : 316  
RF EM CROMATOGRRAFIA EM PAPEL : 86  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RS  
RF-C L A E : 14.85  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM : 236  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 207  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 78  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 77

**ENTRADA : 43**

NOME DA SUBSTANCIA: IMIPRAMINA  
PESO MOLECULAR : 280  
RF EM CROMATOGRRAFIA EM PAPEL : 81  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: BR  
RF-C L A E : 33.3  
SOLVENTE CLAE F5  
PICO BASE EM : 58  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 234  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 193  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 235

**ENTRADA : 44**

NOME DA SUBSTANCIA: IMIPRAMINA  
PESO MOLECULAR : 280  
RF EM CROMATOGRRAFIA EM PAPEL : 81  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: BR  
RF-C L A E : 25.95  
SOLVENTE CLAE F12  
PICO BASE EM : 58  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 234  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 193  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 235

**ENTRADA : 45**

NOME DA SUBSTANCIA: JMIPRAMINA  
 PESO MOLECULAR : 280  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 81  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: BR  
 RF-C L A E : 16.35  
 SOLVENTE CLAE F15  
 PICO BASE EM : 58  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 234  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 195  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 235

**ENTRADA : 46**

NOME DA SUBSTANCIA: CLORIMIPRAMINA  
 PESO MOLECULAR : 314  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 83  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: BR  
 RF-C L A E : 53.02  
 SOLVENTE CLAE F5  
 PICO BASE EM : 58  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 254  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 255  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 85

**ENTRADA : 47**

NOME DA SUBSTANCIA: CLORIMIPRAMINA  
 PESO MOLECULAR : 314  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 83  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: BR  
 RF-C L A E : 39.1  
 SOLVENTE CLAE F12  
 PICO BASE EM : 58  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 254  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 255  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 85

**ENTRADA : 48**

NOME DA SUBSTANCIA: CLORIMIPRAMINA  
 PESO MOLECULAR : 314  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 83  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: BR  
 RF-C L A E : 21.15  
 SOLVENTE CLAE F15  
 PICO BASE EM : 58  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 254  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 255  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 85



**ENTRADA : 49**

NOME DA SUBSTANCIA: AMITRIPTILINA  
 PESO MOLECULAR : 277  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 79  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: BRN  
 RF-C L A E : 39.52  
 SOLVENTE CLPE F5  
 PICO BASE EM : 58  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 218  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 217  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 202

**ENTRADA : 50**

NOME DA SUBSTANCIA: AMITRIPTILINA  
 PESO MOLECULAR : 277  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 79  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: BRN  
 RF-C L A E : 28.95  
 SOLVENTE CLPE F12  
 PICO BASE EM : 58  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 218  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 217  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 202

**ENTRADA : 51**

NOME DA SUBSTANCIA: AMITRIPTILINA  
 PESO MOLECULAR : 277  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 79  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: BRN  
 RF-C L A E : 17.55  
 SOLVENTE CLPE F15  
 PICO BASE EM : 58  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 218  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 217  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 202

**ENTRADA : 52**

NOME DA SUBSTANCIA: FLUFENAZINA  
 PESO MOLECULAR : 437  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 80  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: AMP  
 RF-C L A E : 42.6  
 SOLVENTE CLPE F5  
 PICO BASE EM : 42  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 280  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 70  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 56

**ENTRADA : 53**

NOME DA SUBSTANCIA: FLUPRINAZINA  
 PESO MOLECULAR : 437  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 80  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RP1  
 COR: AMP  
 RF-C L A E : 8.25  
 SOLVENTE CLAE F12  
 PICO BASE EM : 42  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 280  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 70  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 56

**ENTRADA : 54**

NOME DA SUBSTANCIA: FENIBARBITAL  
 PESO MOLECULAR : 232  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 44  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RP2  
 COR: AZV  
 RF-C L A E : 4.5  
 SOLVENTE CLAE F1  
 PICO BASE EM : 204  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 117  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 115  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 103

**ENTRADA : 55**

NOME DA SUBSTANCIA: FENOBARBITAL  
 PESO MOLECULAR : 232  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 44  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RP2  
 COR: AZV  
 RF-C L A E : 3.3  
 SOLVENTE CLAE F3  
 PICO BASE EM : 204  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 117  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 115  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 103

**ENTRADA : 56**

NOME DA SUBSTANCIA: FENOBARBITAL  
 PESO MOLECULAR : 332  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 44  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RP2  
 COR: AZV  
 RF-C L A E : 7.05  
 SOLVENTE CLAE F4  
 PICO BASE EM : 204  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 117  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 115  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 103

**ENTRADA: 57**

NOME DA SUBSTANCIA: FENOBARBITAL  
PESO MOLECULAR : 232  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 44  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF2  
COR: AZV  
RF-C L A E : 10.05  
SOLVENTE CLAE F6  
PICO BASE EM : 204  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 117  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 115  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 103

**ENTRADA: 58**

NOME DA SUBSTANCIA: FENOBARBITAL  
PESO MOLECULAR : 232  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 44  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF2  
COR: AZV  
RF-C L A E : 16.5  
SOLVENTE CLAE F7  
PICO BASE EM : 204  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 117  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 115  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 103

**ENTRADA: 59**

NOME DA SUBSTANCIA: BUTALBITAL  
PESO MOLECULAR : 224  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 86  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF2  
COR: BRN  
RF-C L A E : 7.65  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM : 168  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 167  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 41  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 124

**ENTRADA: 60**

NOME DA SUBSTANCIA: BUTALBITAL  
PESO MOLECULAR : 224  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 86  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF2  
COR: BRN  
RF-C L A E : 13.65  
SOLVENTE CLAE F6  
PICO BASE EM : 168  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 167  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 41  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 124



**ENTRADA : 61**

NOME DA SUBSTANCIA: ALOBARBITAL  
PESO MOLECULAR : 208  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 75  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF2  
COR: AZV  
RF-C L A E : 4.92  
SOLVENTE CLAE F1  
PICO BASE EM : 167  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 124  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 166  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 80

**ENTRADA : 62**

NOME DA SUBSTANCIA: ALOBARBITAL  
PESO MOLECULAR : 208  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 75  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF2  
COR: AZV  
RF-C L A E : 5.91  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM : 167  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 124  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 166  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 80

**ENTRADA : 63**

NOME DA SUBSTANCIA: ALOBARBITAL  
PESO MOLECULAR : 208  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 75  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF2  
COR: AZV  
RF-C L A E : 9.24  
SOLVENTE CLAE F6  
PICO BASE EM : 167  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 124  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 166  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 80

**ENTRADA : 64**

NOME DA SUBSTANCIA: ALOBARBITAL  
PESO MOLECULAR : 208  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 75  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF2  
COR: AZV  
RF-C L A E : 14.25  
SOLVENTE CLAE F7  
PICO BASE EM : 167  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 124  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 166  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 80

**ENTRADA : 65**

NOME DA SUBSTANCIA: PAPAVERINA  
 PESO MOLECULAR : 339  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 72  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: BRN  
 RF-C L A E : 14.55  
 SOLVENTE CLAE F5  
 PICO BASE EM : 324  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 338  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 339  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 308

**ENTRADA : 66**

NOME DA SUBSTANCIA: PAPAVERINA  
 PESO MOLECULAR : 339  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 72  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: BRN  
 RF-C L A E : 6.3  
 SOLVENTE CLAE F12  
 PICO BASE EM : 324  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 338  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 339  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 308

**ENTRADA : 67**

NOME DA SUBSTANCIA: PAPAVERINA  
 PESO MOLECULAR : 339  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 72  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: BRN  
 RF-C L A E : 5.7  
 SOLVENTE CLAE F15  
 PICO BASE EM : 324  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 338  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 339  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 308

**ENTRADA : 68**

NOME DA SUBSTANCIA: DIFORIDAMOL  
 PESO MOLECULAR : 504  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 84  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: VRD  
 RF-C L A E : 6.3  
 SOLVENTE CLAE F1  
 PICO BASE EM : 999  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999



**ENTRADA: 69**

NOME DA SUBSTANCIA: NICOTINA  
 PESO MOLECULAR : 162  
 RF EM CROMATOGRRAFIA EM PAPEL : 39  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: AZP  
 RF-C L A E : 7.5  
 SOLVENTE CLAE F5  
 PICO BASE EM : 84  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 162  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 42  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 133

**ENTRADA: 70**

NOME DA SUBSTANCIA: NICOTINA  
 PESO MOLECULAR : 162  
 RF EM CROMATOGRRAFIA EM PAPEL : 39  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: AZP  
 RF-C L A E : 3.15  
 SOLVENTE CLAE F12  
 PICO BASE EM : 84  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 162  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 42  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 133

**ENTRADA: 71**

NOME DA SUBSTANCIA: NICOTINA  
 PESO MOLECULAR : 162  
 RF EM CROMATOGRRAFIA EM PAPEL : 39  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: AZP  
 RF-C L A E : 4.95  
 SOLVENTE CLAE F15  
 PICO BASE EM : 84  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 162  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 42  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 133

**ENTRADA: 72**

NOME DA SUBSTANCIA: CAFEINA  
 PESO MOLECULAR : 194  
 RF EM CROMATOGRRAFIA EM PAPEL : 77  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: RX  
 RF-C L A E : 7.2  
 SOLVENTE CLAE F1  
 PICO BASE EM : 194  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 109  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 55  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 67

**ENTRADA : 73**

NOME DA SUBSTANCIA: CAFEINA  
PESO MOLECULAR : 194  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 77  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RX  
RF-C L A E : 9  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM : 194  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 109  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 55  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 67

**ENTRADA : 74**

NOME DA SUBSTANCIA: CAFEINA  
PESO MOLECULAR : 194  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 77  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RX  
RF-C L A E : 3.96  
SOLVENTE CLAE F5  
PICO BASE EM : 194  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 109  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 55  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 67

**ENTRADA : 75**

NOME DA SUBSTANCIA: CAFEINA  
PESO MOLECULAR : 194  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 77  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RX  
RF-C L A E : 13.05  
SOLVENTE CLAE F6  
PICO BASE EM : 194  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 109  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 55  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 67

**ENTRADA : 76**

NOME DA SUBSTANCIA: CAFEINA  
PESO MOLECULAR : 194  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 77  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RX  
RF-C L A E : 18.15  
SOLVENTE CLAE F7  
PICO BASE EM : 194  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 109  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 55  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 67

**ENTRADA : 77**

NOME DA SUBSTANCIA: CAFEINA  
 PESO MOLECULAR : 194  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 77  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 CUR: RX  
 RF-C L A E : 4.2  
 SOLVENTE CLAE F12  
 PICO BASE EM : 194  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 109  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 55  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 67

**ENTRADA : 78**

NOME DA SUBSTANCIA: CAFEINA  
 PESO MOLECULAR : 194  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 77  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 CUR: RX  
 RF-C L A E : 4.95  
 SOLVENTE CLAE F15  
 PICO BASE EM : 194  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 109  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 55  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 67

**ENTRADA : 79**

NOME DA SUBSTANCIA: FENCANFAMINA  
 PESO MOLECULAR : 215  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 88  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 CUR: H2O  
 RF-C L A E : 8.35  
 SOLVENTE CLAE F12  
 PICO BASE EM : 98  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 215  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 91  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 58

**ENTRADA : 80**

NOME DA SUBSTANCIA: SULFIRIDE  
 PESO MOLECULAR : 341  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 40  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 CUR: RX  
 RF-C L A E : 4.35  
 SOLVENTE CLAE F5  
 PICO BASE EM : 999  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999



**ENTRADA: 81**

NOME DA SUBSTANCIA: SULFIRIDE  
PESO MOLECULAR : 341  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL: 40  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RX  
RF-C L A E : 3.3  
SOLVENTE CLAE F12  
PICO BASE EM : 999  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999

**ENTRADA: 82**

NOME DA SUBSTANCIA: SULFIRIDE  
PESO MOLECULAR : 341  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL: 40  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RX  
RF-C L A E : 3.9  
SOLVENTE CLAE F15  
PICO BASE EM : 999  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 999  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 999

**ENTRADA: 83**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO HIPURICO  
PESO MOLECULAR : 179  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL: 999  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
COR: 999  
RF-C L A E : 3.15  
SOLVENTE CLAE F1  
PICO BASE EM : 105  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 77  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 161  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 117

**ENTRADA: 84**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO HIPURICO  
PESO MOLECULAR : 179  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL: 999  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
COR: 999  
RF-C L A E : 2.25  
SOLVENTE CLAE F2  
PICO BASE EM : 105  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 77  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 161  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 117



**ENTRADA : 85**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO HIPURICO  
PESO MOLECULAR : 179  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
CUR: 999  
RF-C L A E : 2.25  
SOLVENTE CLAE F3  
PICO BASE EM : 105  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 77  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 161  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 117

**ENTRADA : 86**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO HIPURICO  
PESO MOLECULAR : 179  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
CUR: 999  
RF-C L A E : 3.66  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM : 105  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 77  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 161  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 117

**ENTRADA : 87**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO HIPURICO  
PESO MOLECULAR : 179  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
CUR: 999  
RF-C L A E : 3.54  
SOLVENTE CLAE F6  
PICO BASE EM : 105  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 77  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 161  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 117

**ENTRADA : 88**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO HIPURICO  
PESO MOLECULAR : 179  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
CUR: 999  
RF-C L A E : 3.6  
SOLVENTE CLAE F7  
PICO BASE EM : 105  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 77  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 161  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 117

**ENTRADA: 89**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO HIPURICO  
 PESO MOLECULAR : 179  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: 999  
 RF-C L A E : 3.45  
 SOLVENTE CLAE F8  
 PICO BASE EM : 105  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 77  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 161  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 117

**ENTRADA: 90**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO HIPURICO  
 PESO MOLECULAR : 179  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: 999  
 RF-C L A E : 3.6  
 SOLVENTE CLAE F13  
 PICO BASE EM : 105  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 77  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 161  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 117

**ENTRADA: 91**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO HIPURICO  
 PESO MOLECULAR : 179  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: 999  
 RF-C L A E : 3.75  
 SOLVENTE CLAE F14  
 PICO BASE EM : 105  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 77  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 161  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 117

**ENTRADA: 92**

NOME DA SUBSTANCIA: ACETANILIDA  
 PESO MOLECULAR : 135  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: RX9  
 RF-C L A E : 5.4  
 SOLVENTE CLAE F1  
 PICO BASE EM : 93  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 135  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 43  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 92

**ENTRADA : 93**

NOME DA SUBSTANCIA: ACETANILIDA  
 PESO MOLECULAR : 135  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: RXA  
 RF-C L A E : 9.3  
 SOLVENTE CLAE F4  
 PICO BASE EM : 93  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 135  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 43  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 92

**ENTRADA : 94**

NOME DA SUBSTANCIA: ACETANILIDA  
 PESO MOLECULAR : 135  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: RXA  
 RF-C L A E : 6.75  
 SOLVENTE CLAE P9  
 PICO BASE EM : 93  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 135  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 43  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 92

**ENTRADA : 95**

NOME DA SUBSTANCIA: ACETAMINOFEN  
 PESO MOLECULAR : 151  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: A2  
 RF-C L A E : 4.8  
 SOLVENTE CLAE F3  
 PICO BASE EM : 109  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 151  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 80  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 81

**ENTRADA : 96**

NOME DA SUBSTANCIA: ACETAMINOFEN  
 PESO MOLECULAR : 151  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: A2  
 RF-C L A E : 9.6  
 SOLVENTE CLAE F4  
 PICO BASE EM : 109  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 151  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 80  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 81

**ENTRADA : 97**

NOME DA SUBSTANCIA: ACETAMINOFEN  
 PESO MOLECULAR : 151  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: AZ  
 R<sub>F</sub>-C L A E : 3.9  
 SOLVENTE CLASSE F9  
 PICO BASE EM : 109  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 151  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 80  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 81

**ENTRADA : 98**

NOME DA SUBSTANCIA: ACETAMINOFEN  
 PESO MOLECULAR : 151  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: AZ  
 R<sub>F</sub>-C L A E : 5.1  
 SOLVENTE CLASSE F10  
 PICO BASE EM : 109  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 151  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 80  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 81

**ENTRADA : 99**

NOME DA SUBSTANCIA: ACETAMINOFEN  
 PESO MOLECULAR : 151  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: AZ  
 R<sub>F</sub>-C L A E : 8.7  
 SOLVENTE CLASSE F11  
 PICO BASE EM : 109  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 151  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 80  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 81

**ENTRADA : 100**

NOME DA SUBSTANCIA: FENACETINA  
 PESO MOLECULAR : 179  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: RYL  
 R<sub>F</sub>-C L A E : 5.25  
 SOLVENTE CLASSE F1  
 PICO BASE EM : 109  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 108  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 179  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 137



**ENTRADA : 101**

NOME DA SUBSTANCIA: FENACETINA  
 PESO MOLECULAR : 179  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: PXP  
 RE-C L A E : 9.15  
 SOLVENTE CLAE F4  
 PICO BASE EM : 109  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 108  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 179  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 137

**ENTRADA : 102**

NOME DA SUBSTANCIA: FENACETINA  
 PESO MOLECULAR : 179  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: PXP  
 RE-C L A E : 10.5  
 SOLVENTE CLAE F9  
 PICO BASE EM : 109  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 108  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 179  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 137

**ENTRADA : 103**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO ACETILSALICILICO  
 PESO MOLECULAR : 180  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 84  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF:  
 COR: 999  
 RE-C L A E : 8.55  
 SOLVENTE CLAE F6  
 PICO BASE EM : 120  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 138  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 92  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 12

**ENTRADA : 104**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO ACETILSALICILICO  
 PESO MOLECULAR : 180  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 84  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF:  
 COR: 999  
 RE-C L A E : 10.65  
 SOLVENTE CLAE F8  
 PICO BASE EM : 120  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 138  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 92  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 121

**ENTRADA : 105**

NOME DA SUBSTANCIA: ACIDO ACETILSALICILICO  
 PESO MOLECULAR : 180  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 84  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: 999  
 RF-C L A E : 5.7  
 SOLVENTE CLAE P15  
 PICO BASE EM : 120  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 138  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 92  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 121

**ENTRADA : 106**

NOME DA SUBSTANCIA: ACETAMINA  
 PESO MOLECULAR : 135  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 999  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL 999  
 COR: 999  
 RF-C L A E : 28.5  
 SOLVENTE CLAE P15  
 PICO BASE EM : 44  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 51  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 39  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 65

**ENTRADA : 107**

NOME DA SUBSTANCIA: ACETANILIDA  
 PESO MOLECULAR : 135  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 40  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: RXA  
 RF-C L A E : 6.75  
 SOLVENTE CLAE P9  
 PICO BASE EM : 93  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 135  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 43  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 65

**ENTRADA : 108**

NOME DA SUBSTANCIA: ACETAMINOFEN  
 PESO MOLECULAR : 151  
 RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL : 40  
 SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
 COR: R2  
 RF-C L A E : 3.9  
 SOLVENTE CLAE P9  
 PICO BASE EM : 109  
 SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 150  
 TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : 108  
 QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 51

```

10 REM PROGRAMA DROGAEV/PES
20 CLEAR 10000
30 DIM B$(12)
40 OPEN "R",#1,"EVDROGA/ARQ",64
50 FIELD #1,2BASB$(1),4ASB$(2),4ASB$(3),3ASB$(4),3ASB$(5),6ASB$(6),2ASB$(7),6ASB$(8),2ASB$(9),2ASB$(10),2ASB$(11),2ASB$(12)
60 BT=LDP(1)
70 PRINT"ULTIMO REGISTRO GRAVADO: ";BT
80 LPRINT CHR$(27);CHR$(14)
90 LPRINT"          DADOS DO DESCONHECIDO ";LPRINT
100 INPUT"NUMERO DA AMOSTRA SOB ANALISE ";NR
110 LPRINT" AMOSTRA N. ";NR:LPRINT
120 LPRINT CHR$(27);CHR$(15)
130 INPUT"RF-PAPEL ";FX:LPRINTTAB(15)"RF-PAPEL ";FX
140 INPUT"TR-CLAE ";TX:LPRINTTAB(15)"TR-CLAE ";TX
150 INPUT"SOLVENTE CROMATOGRAFIA EM PAPEL";PX:LPRINTTAB(15)"SOLVENTE EM CROMATO
GRAFIA EM PAPEL ";PX
160 INPUT"SOLVENTE EM CLAE ";CX:LPRINTTAB(15)"SOLVENTE EM CLAE ";CX
170 INPUT"CDR DO SPOT EM PAPEL ";RX:LPRINTTAB(15)"CDR DO SPOT EM PAPEL ";RX
180 INPUT"PICO BASE ";Z1:LPRINTTAB(15)"PICO BASE ";Z1
190 INPUT"FRAGMENTO 2 NO ESPECTRO DE MASSA ";Z2:LPRINTTAB(15)"FRAGMENTO 2 NO ESP
ECTRO DE MASSA ";Z2
200 INPUT"FRAGMENTO 3 NO ESPECTRO DE MASSA ";M3:LPRINTTAB(15)"FRAGMENTO 3 NO ESP
ECTRO DE MASSA ";M3
210 INPUT"FRAGMENTO 4 NO ESPECTRO DE MASSA ";M4:LPRINTTAB(15)"FRAGMENTO 4 NO ESP
ECTRO DE MASSA ";M4
220 LPRINT:LPRINT CHR$(27);CHR$(14)"          RESPOSTA DO COMPUTADOR":LPRINT:LPRINT
230 FOR I=1 TO BT
240 GET #1,I
250 T1=CVS(B$(2));T2=CVS(B$(3));Y1=CVI(B$(9));Y2=CVI(B$(10));Y3=CVI(B$(11));Y4=
CVI(B$(12))
260 IF ABS(T1-FX)<6 THEN F1=1 ELSE F1=.8
270 IF ABS(T2-TX)<1 THEN F2=1 ELSE F2=.8
280 IF PX=B$(4) THEN F3=1 ELSE F3=.8
290 IF CX=B$(5) THEN F4=1 ELSE F4=.8
300 IF Z1=Y1 OR Z2=Y1 THEN F5=1 ELSE F5=.8
310 IF Z2=Y2 OR Z2=Y3 OR Z2=Y4 THEN F6=1 ELSE F6=.8
320 GI=F1*F2*F3*F4*F5*F6
330 IF Z1>0 AND GI>.6 THEN 350 ELSE 340
340 IF Z1=0 AND GI>.5 THEN 350 ELSE 510
350 LPRINT CHR$(27);CHR$(14)
360 PRINT"RESULTADOS";F1;F2;F3;F4;F5;F6
370 LPRINT"ENTRADA";I,"  GI= ";GI:LPRINT
380 LPRINT CHR$(27);CHR$(15)
390 LPRINT"NDME DA SUBSTANCIA: ";B$(1)
400 LPRINT"PESO MOLECULAR: ";CVI(B$(7))
410 LPRINT"RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL: ";CVS(B$(2))
420 LPRINT"SOLVENTE CROMAT. PAPEL ";B$(4)
430 LPRINT"CDR: ";B$(6)
440 LPRINT"RF-C L A E ";CVS(B$(3))
450 LPRINT"SOLVENTE CLAE ";B$(5)
460 LPRINT"PICO BASE EM ";CVI(B$(9))
470 LPRINT"SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM: ";CVI(B$(10))
480 LPRINT"TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM: ";CVI(B$(11))
490 LPRINT"QUARTO PICO MAIS INTENSO EM: ";CVI(B$(12))
500 LPRINT
510 NEXT I
520 PRINT"PESQUISA CONCLUIDA"
530 CLOSE #1
540 END

```

Fig. 1. Programa em BASIC para comparar a identidade da substância-problema com as entradas da biblioteca de drogas.



```

10 REM PROGRAMA DRUGS
20 CLIP# 100000
30 DIM B$(12)
40 OPEN "R",#1,"DRUGS.DAT",8
50 OPEN "R",#2,"EUROG.DAT",8
60 FIELD #1,3ASB$1$,4ASB$2$,5ASB$3$,6ASB$4$,7ASB$5$,8ASB$6$,9ASB$7$,10ASB$8$
70 FIELD #2,2ASB$(1)$,4ASB$(2)$,4ASB$(3)$,3ASB$(4)$,3ASB$(5)$,6ASB$(6)$,2ASB$(7)$,2ASB$(8)$,2ASB$(9)$,2ASB$(10)$,2ASB$(11)$,2ASB$(12)$
80 CLS
90 PRINT"ULTIMO REGISTRO GRAVADO NO ARQUIVO NOVO : ";LOF(2)
100 PRINT"ULTIMO REGISTRO GRAVADO NO ARQUIVO VELHO ";LOF(1)
110 INPUT"NUMERO DO ARQUIVO QUE DESEJA TRANSFERIR ";J1
120 GET #1,J1
130 NO$=B1$:LSET B$(1)=NO$
140 PRINT"NOME ";NO$
150 RT=VAL(B3$):LSET B$(2)=MKI$(RT)
160 PRINT"RT-PAPEL ";RT
170 TR=VAL(B4$):LSET B$(3)=MKI$(TR)
180 PRINT"TR-CLAS ";TR
190 CR$=B6$:LSET B$(6)=CR$:PRINT"CRF ";CR$
200 EP$=MD$(B3$,3,6):LSET B$(4)=EP$:PRINT"E-PAPEL ";EP$
210 INPUT"ELUENTE-CLAS ";EC$:LSET B$(5)=EC$:PRINT"ELUENTE-CLAS ";EC$
220 INPUT"PESO MOLECULAR ";PM:LSET B$(7)=MKI$(PM):PRINT"PESO MOLECULAR ";PM
230 INPUT"ENTRE COM IKOVATS(XXXXK),P.FUSAO(XXXXP) OU P.SULICAO(XXXE) ";CP$:LSET B$(8)=CP$:PRINT"CONSTANTE FISICA ";CP$
240 INPUT"PICO BASE ";M1:LSET B$(9)=MKI$(M1):PRINT"PICO BASE ";CVI(B$(9))
250 INPUT"FRAGMENTO 2 NO ESPECTRO DE MASSA ";M2:LSET B$(10)=MKI$(M2)
260 INPUT"FRAGMENTO 3 NO ESPECTRO DE MASSA ";M3:LSET B$(11)=MKI$(M3)
270 INPUT"FRAGMENTO 4 NO ESPECTRO DE MASSA ";M4:LSET B$(12)=MKI$(M4):PRINT"OUTROS FRAGMENTOS ";CVI(B$(10)),CVI(B$(11)),CVI(B$(12))
280 PUT #2,J1
300 INPUT"DESEJA NOVA GRAVACAO (S/N) ";R$
310 IF R$="S" THEN 110 ELSE 320
320 PRINT:PRINT"TAREFA CONCLUIDA"
330 CLOSE #1
340 CLOSE #2
350 END

```

Fig. 2. Programa em BASIC para incorporar entradas na biblioteca de drogas.



```

10 REM PROGRAMA DROGAS.VALEF
20 CLEAR 10000
30 DIM B$(12)
40 OPEN "R",#1,"ENDROGA/ARQ",64
50 FIELD #1,2ASB$(1),4ASB$(2),4ASB$(3),3ASB$(4),3ASB$(5),6ASB$(6),2ASB$(7),6ASB$(8),2ASB$(9),2ASB$(10),2ASB$(11),2ASB$(12)
60 PRINT"ULTIMO REGISTRO GRAVADO: ";LOF(1)
70 LPRINT CHR$(27);CHR$(14)
80 LPRINT" ENTRADAS DA BIBLIOTECA DE DROGAS":LPRINT
90 LPRINT:LPRINT
100 INPUT"ENTRADA INICIAL":I
110 INPUT"ENTRADA FINAL":F%
120 FOR I=EX TO F%
130 GET #1,I
140 LPRINT CHR$(27);CHR$(14)
150 LPRINT"ENTRADA: ";I:LPRINT
160 LPRINT CHR$(27);CHR$(15)
170 LPRINT"NOME DA SUBSTANCIA: ";B$(1)
180 LPRINT"PESO MOLECULAR: ";CVI(B$(7))
190 LPRINT"RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL: ";CVS(B$(2))
200 LPRINT"SOLVENTE CROMAT. PAPEL ";B$(4)
210 LPRINT"COR: ";B$(6)
220 LPRINT"RF-C L A E :";CVS(B$(3))
230 LPRINT"SOLVENTE CLAE ";B$(5)
240 LPRINT"PICO BASE EM : ";CVI(B$(9))
250 LPRINT"SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : ";CVI(B$(10))
260 LPRINT"TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM : ";CVI(B$(11))
270 LPRINT"QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : ";CVI(B$(12))
280 LPRINT
290 NEXT I
300 PRINT"LEITURA CONCLUIDA"
310 CLOSE #1
320 END

```

Fig. 3. Programa em BASIC para ler entradas existentes na biblioteca de drogas.

## 5. DERIVATIZAÇÃO

Nos últimos 20 anos, o intenso interesse e atividade no desenvolvimento de métodos, tem resultado na publicação de muitas técnicas de derivatização. A proposta deste capítulo é apresentar as técnicas de derivatização mais largamente usadas, especialmente as utilizadas para compostos aminados.

A formação de derivados químicos é uma prática muito comum em cromatografia gás-líquido (CGL), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia gás-líquido acoplada à espectrometria de massa (CGL-EM), espectrometria na região do ultravioleta (UV) e fluorescência, dentre outras.

O uso da derivatização em cromatografia atende a pelo menos três grandes razões: 1) permitir a cromatografia, 2) melhorar a separação e 3) aumentar a detectabilidade.

As técnicas de derivatização mais frequentemente usadas são: acilação, sililação, esterificação, alquilação, com fluorescência, com cloreto de NBD (7-cloro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol), com cloreto de dansila. A tabela V (p.78) resume os métodos de derivatização aplicáveis usados para diversos grupos funcionais.

Do ponto de vista estritamente cromatográfico, pode-se considerar dois tipos diferentes de derivatização:

derivatização pré-coluna, que é uma reação antes de a separação cromatográfica ser executada<sup>104-227</sup>.

derivatização pós-coluna, que consiste em uma reação depois da separação, com fluxo contínuo, de tal modo que o reagente é misturado ao fluxo do eluente<sup>228-236</sup>.

Breve comentário envolvendo a derivatização de compostos aminados<sup>237-238</sup>, é apresentado a seguir nos aspectos que mais interessam aos objetivos do presente trabalho.

A separação e determinação de aminas primárias e secundárias por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), usando diferentes derivados e com detecções fluorescente e quimioluminescente, tem sido objeto de numerosas investigações nos anos recentes<sup>239-246</sup>. Foi demonstrado recentemente que a detecção eletroquímica (DE) é extremamente favorável para a análise de compostos eletroativos em fluidos biológicos devido à sensibilidade e seletividade<sup>247-248</sup> destes compostos para o processo. Reagentes de derivatização de poderosa utilidade para CLAE-DE também têm sido examinados<sup>249</sup>. Contudo, só existe um trabalho sobre CLAE de aminas terciárias usando uma solução de anidrido acético e ácido cítrico como reagente de cor<sup>250</sup>. Aminas terciárias não produzem derivados estáveis quando sujeitas a reações com cloretos de ácidos e procedimentos de derivatização covalente são de pouco uso para tais compostos<sup>251</sup>.

Aminas alifáticas e aromáticas têm também sido separadas por CLAE usando como reagente derivatizante isocianato de fenila, em sistema de fase-reversa com detecção UV<sup>252</sup>.

Um possível reagente para aminas é o reagente recomendado para compostos hidroxílicos: cloreto de 3,5-dinitrobenzoila (DNBC)<sup>253</sup>.



A reação de benzoilação usando cloreto de benzoila e piridina para formar um derivado que absorva no ultravioleta é descrita com respeito a sua utilidade para melhorar o limite de detecção em CLAE (254 nm) de hidroxilas que não absorvem em UV como as hidroxilas de esteróides, por exemplo<sup>254</sup>. A separação de alguns carboidratos perbenzoilados por CLAE é igualmente descrita<sup>255</sup>. Ácido hipúrico foi preparado via reação de Schotten-Baumann<sup>256</sup>.

As separações, em fase reversa, de derivados de aminas alifáticas, diaminas e poliaminas com cloreto de benzoila são relatadas<sup>257-260</sup>. A investigação de n-alquilbenzamidias por CLAE em fase reversa foi também estudada<sup>261,262</sup>. A conversão de uma amina a uma sulfonamida é usada para propiciar a detecção na região do ultravioleta<sup>251</sup>. A separação e quantificação de aminas polifuncionais por CLAE como seus derivados m-toluil foram também objeto de estudo<sup>263</sup>. No entanto, nenhum dos procedimentos descritos nestes trabalhos é seletivo para grupos amino se grupos alcoólicos estão presentes na molécula.

Este objetivo, no presente trabalho foi alcançado com uma modificação da reação de Schotten-Baumann, onde hidróxido de sódio na reação original foi substituído por bicarbonato de sódio na reação modificada conforme mostrado na Fig. 4.

Quando se trabalha com misturas complexas contendo mais de um grupo funcional derivatizável, reações seletivas, como a acima, contribuem para simplificar o processo e obter maior segurança nas identificações.



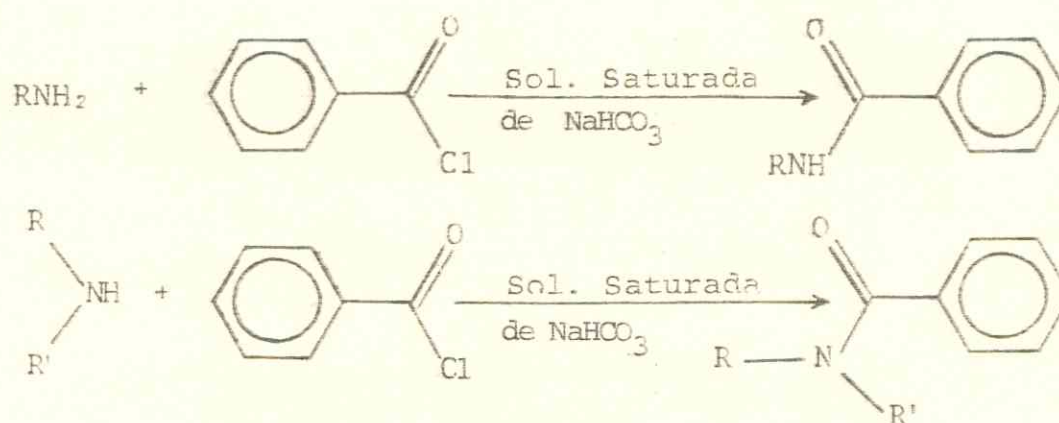


Figura 4. Reações gerais de aminas primárias e secundárias com cloreto de benzoila.

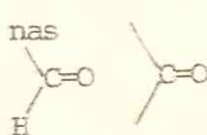
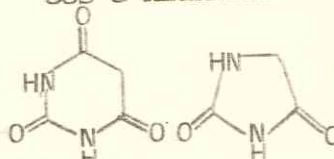
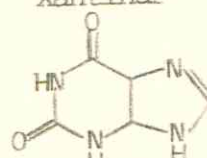
A maior aplicação da reação modificada referida, reside no fato que grupos alcoólicos presentes na molécula não interferem na reação e a benzoilação de grupos amino ocorre seletivamente<sup>278</sup>. Sua aplicação na análise "anti-doping" reside na detecção por CLAE de anfetaminas e compostos relacionados.

A derivatização de anfetaminas se torna necessária no que diz respeito à CLAE, porque estas substâncias, apesar de poderem ser detectadas no UV a 254 nm, apresentam baixos coeficientes de extinção molar ( $\epsilon$ ), fato que não confere segurança na identificação destes compostos pela técnica referida.

Em análises destinadas a detectar anfetaminas apenas por CGL-EM<sup>264</sup>, sem a interferência de CLAE, a derivatização com CS<sub>2</sub> e acetona oferece bons resultados como se pode apreciar pela análise dos fragmentos mostrados nas figuras 20 e 21 (p.124) e principais fragmentos dos derivados obtidos mostrados nos quadros 1 e 2 (p. 125 e 126).

O produto da derivatização da anfetamina com  $CS_2$  nas condições especificadas na Fig. 21, p.124, fornece um ion molecular intenso, fato que contribui para facilitar a identificação desta substância por CGL-EM.

Tabela V. Grupos funcionais e procedimentos de derivatização<sup>265</sup>.

GRUPO FUNCIONAL	Acilação	Sililação	Esterificação	Alquilação	Derivados carbonila	Redução	Base de Schiff	Boronatos cíclicos	Fluorescamina	Cloreto de NBD	Cloreto de dansila
Ácidos carboxílicos R-COOH		X	X					X			
Alcoois e tiois R-OH R-SH	X	X		X				X		X	X
Aldeídos e cetonas 					X	X	X				
Aminas primárias e secundárias R-NH <sub>2</sub> RNHR''	X	X						X	X	X	X
Fenóis Ar-OH	X	X		X							
Ácidos barbitúricos e hidantoínas 					X						
Xantinas 					X						

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1. PADRONIZAÇÃO EM CP

Com o objetivo de obter uma informação prévia sobre o tipo de droga em análise a Tabela VI (p. 94) mostra para trinta e seis fármacos testados os valores de  $R_f$  em cromatografia em papel, a cor do spot quando submetido a luz UV a 254nm além do comportamento das mesmas substâncias quando submetidas a reações com agentes cromogênicos. Na tabela em apreço, o  $R_f$  das substâncias em CP encontra-se multiplicado por 100. A justificativa para esse procedimento encontra-se relacionada a organização da biblioteca de padrões, uma vez que, o emprego de valores numéricos inteiros resulta numa enorme economia de espaço de memória no computador.

Das 36 substâncias referidas apenas 4 delas - Acetaminofen, acetamida, ácido hipúrico e fenacetina - não apresentaram resultados concludentes para a sua utilização com informação útil para o procedimento de triagem na classificação da droga. Nestes casos houve necessidade de se proceder a triagem usando CLAE e CGL-EM.

No que concerne à identificação preliminar de barbitúricos na mistura sob análise existe um número bastante limitado de reveladores para esta classe de substâncias depressoras do sistema nervoso central, com colorações nem sempre específicas e de difícil julgamento.



Por este motivo, realizamos várias tentativas no sentido de obter um revelador mais específico e que oferecesse resultados mais confiáveis para um processo de triagem. Este objetivo foi conseguido num teste simples que desenvolvemos e que consiste em borrifar o cromatograma previamente com nitrato mercurioso a 2% em etanol e submetê-lo às condições descritas na parte experimental, p. 151. Os barbitúricos e substâncias semelhantes fornecem uma mancha branca em fundo marron talvez devido a formação de sal de amônio as custas da forma enólica das amidas correspondentes<sup>266</sup>. É verdade que a uréia constituinte maior da urina - fornece resultado para o teste - o qual não interfere no julgamento porque a urina depois de submetida ao processo de extração líquido-líquido descrito na parte experimental (p.147) fica totalmente isenta de uréia.

Um suporte para se admitir que a reação ocorre via sal de amônio da forma enólica da amida é o fato da hidantoina que possui uma porção da molécula - NH-CO-NH - oferecer teste positivo e a cafeína que possui uma porção da molécula - N-CH<sub>3</sub>(CO)N-CH<sub>3</sub> - apresentar teste negativo.

O teste em apreço se aplica a cromatografia de partição em papel mas não se aplica a cromatoplasmas de sílica-gel, talvez porque a possível formação do sal de amônio que estamos propondo ainda sem provas, seja dificultada pelo processo de adsorção do material na placa.

## 6.2. PADRONIZAÇÃO EM CLAE

O objetivo maior do presente trabalho, foi o de, como já se acentuou antes, organizar uma biblioteca de padrões usan

do perfis cromatográficos e espectrométricos além de outros dados, para ser usada em processos de identificação de misturas sob análise que contenham drogas de abuso ou fármacos em sua composição.

Valores padronizados de tempos de retenção em CLAE, eluentes e fluxos para 37 fármacos estudados são apresentados na Tabela VII p. 97 .

Os solventes utilizados variaram desde acetonitrila até solventes tamponados. A inspeção dos fármacos apresentados na tabela mostra o poder analítico da CLAE na identificação de substâncias com características físicas e químicas bastante diversas, como normalmente ocorre nas misturas complexas.

Este poder analítico é mais importante ainda na análise de drogas e fármacos face a presença na mistura de componentes não voláteis como por exemplo o dipiridamol ou ainda devido a presença de substâncias que não são capazes de suportar as temperaturas por vezes elevadas empregadas em CGL.

Os cromatogramas (Figs. 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11) de algumas drogas analisadas por CLAE, isoladamente ou em mistura, ilustram o poder de resolução da cromatografia líquida de alta eficiência quando aplicada a esta classe de substâncias.

### 6.3. BENZOILAÇÃO SELETIVA DE AMINAS

A reação de álcoois alifáticos com cloreto de benzoila na presença de bicarbonato de sódio, nas mesmas condições experimentais, é mais lenta do que a reação com aminas correspondentes.

Para ilustrar, com um exemplo, basta comparar o espectro

IV dos produtos das seguintes reações de benzoilação:

- a) isobutilamina
- b) álcool isobutílico
- c) álcool isobutílico (1 mol) + isobutilamina (1 mol).

Os espectros IV de (a) e (c) mostraram uma só absorção de carbonila a  $1625 \text{ cm}^{-1}$  (amida), enquanto que o espectro IV de (b) mostrou três (3) absorções de carbonila a  $1690 \text{ cm}^{-1}$  (ácido livre)  $1710 \text{ cm}^{-1}$  (éster) e  $1775 \text{ cm}^{-1}$  (cloreto de ácido). Quando os grupos aminicos e hidroxílicos coexistem na mesma molécula é fácil de entender que a benzoilação de grupos aminicos é ainda mais seletiva, como se ilustra pela reação de etanolamina com cloreto de benzoila em uma solução saturada de bicarbonato de sódio.

O produto da reação mostrou só um pico em CLAE (cf. Fig.12). A análise por CGL-EM da substância correspondente ao pico em CLAE (cf. Fig.13) mostrou ser  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ .

Embora a reação possa se completar em 4 horas a temperatura ambiente, o tempo de reação usado foi de 4-16 horas para assegurar a derivatização completa.

Os compostos derivatizados em estado seco ou em solução metanólica são estáveis durante muitos dias mesmo se estocados a temperatura ambiente. É preferível no entanto que as amostras sejam preparadas antes da corrida cromatográfica, para maior segurança.

N-alquil e N,N-dialquilbenzamidias mostram uma forte absorção no UV a 230 nm e o coeficiente molar correspondente a 230 nm é ca.  $10.000 \text{ l/mol. cm}$  o que permite detecção abaixo do



nível de 5 ng. Usando-se monitor UV a 230-260 nm obtem-se detecção dos derivados abaixo do nível de 5-10 ng.

É possível atribuir ao método as seguintes vantagens e desvantagens:

#### Vantagens

- (1) os alcoois são quase não reativos com cloreto de benzoila nas condições descritas.
- (2) os derivados não são sensíveis a variações de pH e assim não necessitam da supressão de eluente.
- (3) os derivados são igualmente estáveis em solução por dias.
- (4) aminas voláteis podem ser "presas" como compostos menos voláteis.
- (5) os padrões benzoilados são fáceis de preparar.
- (6) o método permite trabalhar em meio ácido.
- (7) o método é sensível para quantidades de nanomol e é reproduzível.
- (8) cloreto de benzoila é facilmente manuseado.
- (9) não é necessário tratamento térmico.
- (10) a reação é completa a temperatura ambiente.
- (11) os derivados são suficientemente voláteis para serem analisados por CGL-EM, exceto quando muitos grupos hidroxílicos estão presentes na molécula, por exemplo N-benzoil-2-deoxiaminoglucose.

#### Desvantagens

- (1) benzoato de sódio é formado durante a reação e necessitando ser extraído antes da corrida cromatográfica.
- (2) o tempo da reação é maior do que os citados literatura, especialmente se grupos hidroxílicos estão envolvidos.



(3) o método por razões óbvias não se aplica a aminas terciárias.

A CLAE em fase reversa usando como solvente metanol a quoso e detecção UV sensitiva pode ser uma técnica útil para caracterização de aminas derivatizadas. Na Fig. 14 se ilustra a separação de uma mistura de N-alkuil e N,N-dialquilbenzamidás com detecção UV a 254 nm.

O método é usado para fazer dosagens de aminas em amostras que contenham aminas primárias ou secundárias. Como exemplo, foi feita a dosagem de piperidina em extrato etanólico de *Piper nigrum* L. (pimenta do reino comercial). A piperidina foi derivatizada de acordo com o item 8.12.2., p. 154, e o produto foi identificado e confirmado por CLAE e CGL-EM. A piperidina assim derivatizada foi utilizada como padrão para identificar e quantificar o teor desta amina na pimenta do reino. No que concerne à CLAE, a identificação da piperidina foi feita através da comparação dos tempos de retenção dos picos do cromatograma (Fig. 16, p. 121) com o tempo de retenção do padrão conhecido (Fig. 15, p. 120). A confirmação da presença de piperidina em pimenta do reino comercial foi realizada através da coinjeção da amostra em estudo com o padrão (cf. Fig. 17, p. 122). Um aumento na intensidade do pico foi observado. Cromatografia gás-líquido acoplada à espectrometria de massa foi também utilizada na total identificação da piperidina do extrato etanólico da pimenta do reino comercial em forma de N-benzoil-piperidina (cf. Fig. 18, p. 122 e Fig. 19, p. 123).

No que diz respeito à quantificação do teor de piperidina em pimenta do reino comercial, o método usado foi o da medida da altura do pico da amostra (cf. Fig. 16, p. 121) com a altura do pico do padrão (N-benzoil-piperidina) (cf. Fig. 15, p. 120). De

acordo com a quantidade injetada do padrão (cf. Fig. 15) e a quantidade injetada da amostra em estudo (cf. Fig. 16) e através das medidas das alturas dos picos em análise pode-se calcular o teor de piperidina na pimenta do reino. Utilizando assim o método acima descrito, conclui-se que o teor de piperidina em 12,25g de pimenta do reino comercial é de 2,714 mg. Isto serviu para testar a utilidade do método.

#### 6.4 Padronização em cromatografia gás-líquido acoplada à espectrometria de massa (CGL-EM).

A CGL-EM é uma das técnicas mais úteis na identificação da anfetamina em líquidos biológicos<sup>264</sup>, desde que, para fins cromatográficos e espectrométricos, seja feita uma derivatização da anfetamina com  $CS_2$  ou acetona. Observando as Fig. 20 e Fig. 21, (p. 124) correspondentes aos derivados da anfetamina com acetona e  $CS_2$ , pode-se concluir que a CGL-EM é uma técnica analítica muito vantajosa para resolver o problema da identificação da anfetamina e compostos anfetamínicos.

Como se pode observar, na derivatização da anfetamina com  $CS_2$  (cf. fragmentação, Quadro 2, p. 126) é possível observar o peso molecular desta. No caso da derivatização da anfetamina com acetona, o derivado obtido não apresenta estabilidade suficiente para a detecção do seu peso molecular em espectrometria de massa (cf. fragmentação, Quadro 1, p. 125).

Portanto esta técnica de derivatização apresenta um interesse significativo no que diz respeito a farmacologia e toxicologia forense.

Tendo em vista a importância da cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa na identificação de compostos orgânicos em geral, e o suporte que esta técnica pode dar ao analista para facilitar a difícil tarefa de analisar a presença de drogas ou fármacos em misturas, apresentamos na Tabela VIII uma relação dos fármacos encontrados com maior frequência em nosso comércio, com informações extraídas dos espectros de massa obtidos das substâncias referidas.

Na relação, além do íon molecular, são apresentados os fragmentos considerados como de utilidade diagnóstica no processo de identificação.

As informações relativas às substâncias, assinaladas com um asterisco (\*) foram obtidas a partir de dados extraídos da literatura<sup>267</sup>. Os dados das demais substâncias foram obtidos em experimentos CGL-EM, em nosso laboratório.

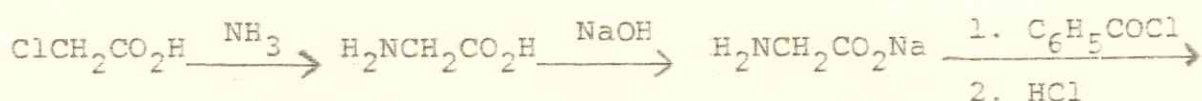
Para algumas substâncias citadas na tabela VIII não foi possível obter dados da literatura ou seus respectivos espectros de massa nas condições de trabalho em nosso laboratório.

#### 6.5. Ácido hipúrico a partir de glicina<sup>268</sup>

Sendo o ácido hipúrico um constituinte normalmente presente na urina humana como um metabólito de componentes dietéticos, seu uso como padrão em análise de urinas, independente do método utilizado, parece-nos indispensável. Por esta razão pensou-se em vista da dificuldade de encontrá-lo disponível no comércio - já que se trata de um produto importado - em obtê-lo em escala de laboratório, dada a simplicidade de sua obtenção.

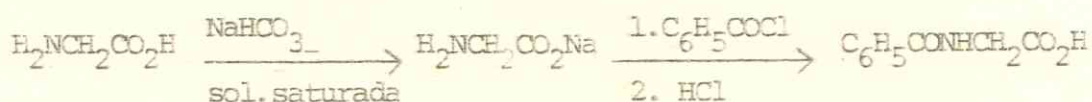


O ácido hipúrico é desde 1943 sintetizado por processo descrito em Organic Synthesis<sup>256</sup> com rendimento de 64-68% envolvendo as seguintes etapas:



A simples substituição, do hidróxido de sódio por uma solução saturada de bicarbonato de sódio respondeu por um aumento substancial do rendimento da reação que passou de 64 - 68% para 85 - 90%.

De acordo com a modificação proposta acima para a reação Schotten-Baumann<sup>268</sup> a sequência de obtenção do ácido hipúrico passou a ter as seguintes etapas:



O ácido hipúrico foi caracterizado e confirmado através de: ponto de fusão 187°C (Lit.<sup>269</sup> 187-188°C), espectros UV (Fig. 22, p.127), espectro IV (Fig.23, p.128), espectros de ressonância magnética nuclear de próton (RMN<sup>1</sup>H) (Fig.24 e Fig.25, p.128 e p.129), espectro de massa (EM) (Fig.26, p.129) e tempo de retenção em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Fig. 27, p.130).

6.6 Identificação de drogas em fármacos. Pesquisa numa biblioteca de padrões.



Propõe-se um esquema para identificação de drogas ou de fármacos em preparações fisiológicas. A identificação é feita comparando-se o material sob análise com uma base de dados arquivada em disco flexível.

O algoritmo de comparação foi desenvolvido para ser rodado em microcomputador da linha TRS-80 (CP-500 da Prológica). A linguagem de programação é o dialeto universal do BASIC, de sorte que a sua adaptação para outros microcomputadores nacionais não representa problema.

Com esta finalidade, foi implementada, a título experimental, uma biblioteca que contém no momento 108 entradas que correspondem a 36 drogas diferentes.

Todos os padrões foram isolados no laboratório a partir de fármacos comercializados no país. As separações foram feitas por cromatografia em terra-silícea, cromatografia em papel e cromatografia líquida de alta eficiência.

As caracterizações foram feitas por comparação de parâmetros nas 3 cromatografias referidas, pela análise de fragmentação obtida no espectrômetro de massa e pela comparação visual dos espectros de massa com padrões da literatura<sup>267,270</sup>. Cada padrão arquivado como entrada na biblioteca contém as seguintes informações:

- a) nome vulgar da droga.
- b) peso molecular.
- c) ponto de fusão (sólidos); ponto de ebulição ou índice Kovats (líquidos).
- d) Rf'S da cromatografia em papel em um sistema específico de solventes.

- e) tempos de retenção em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em um sistema específico de solventes.
- f) pico base e 3 outros fragmentos (m/z) mais intensos do espectro de massa.

O algoritmo usado para comparar os dados da substância problema - daqui para diante denominada desconhecido como é usual em linguagem de computador - e selecionar as entradas que mais se aproximam dele foi desenvolvido tendo em vista que alguns parâmetros a serem medidos estão sujeitos a variações de ordem experimental. Estas variações foram estimadas dentro de limites considerados razoáveis para elas.

Os dados do desconhecido a serem comparados com os correspondentes de cada entrada arquivada envolvem os seguintes parâmetros:

- 1) F1 = Rf da corrida cromatográfica em papel.
- 2) F2 = tempo de retenção da corrida em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).
- 3) F3 = eluente da corrida cromatográfica em papel.
- 4) F4 = eluente usado em CLAE.
- 5) F5 = cor da mancha da corrida cromatográfica em papel sob a ação de luz ultravioleta (254nm).
- 6) F6 = presença, no espectro de massa, de 3 dentre os 4 picos mais intensos arquivados para cada padrão.

O grau de identidade (GI) entre o desconhecido e uma dada entrada da biblioteca é definido por:

$$GI = F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5 \times F6.$$

O fator 0,8 foi arbitrado para indicar ausência de coincidência entre uma propriedade medida no desconhecido e a mesma propriedade medida em uma entrada da biblioteca. A escolha deste valor tem razão de ser porque num conjunto onde são comparadas 6 propriedades, a coincidência de apenas 3 delas indica 50% de acerto.

Com efeito,  $(0,8)^3 = 0,512$ .

O programa considera para listar os candidatos da biblioteca que guardam um certo grau de semelhança com o desconhecido, apenas os valores acima de 0,50.

Aplicações do programa em análise toxicológicas são discutidas no item 6.7 destinado a identificação de fármacos em algumas amostras de urina selecionadas para estudo.

Os programas desenvolvidos para complementar a biblioteca e realizar as comparações são apresentados nas Fig.1, p.70 e Fig.2, p. 71 .

#### 6.7 Identificação de alguns fármacos estudados nas amostras de urinas selecionadas para o trabalho.

A padronização de condições analíticas em cromatografia de partição em papel (CP), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa (CGL-EM), permitiu a identificação de fármacos em amostras de urina provenientes de indivíduos intoxicados por medicamentos.

Cumprе assinalar que perfis cromatográficos de amostras de urina de indivíduos não medicados (branco) foram sempre comparados com os perfis cromatográficos das amostras de urina dos indivíduos medicados. Dentre os resultados positivos, três são



apresentados a seguir:

Paciente 1. Suspeita de intoxicação por fenobarbital. A amostra analisada foi obtida de acordo com o fluxograma (Fig.36,p.156) a pH 2,0.

O resíduo obtido foi submetido a cromatografia de partição em papel (cf. parte experimental, item 8.8., p.150)

A mancha de coloração branca (hRf = 44) do cromatograma obtido, possivelmente corresponde ao fenobarbital.

Através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi observado um pico cujo tempo de retenção 7,5 min. corresponde ao fenobarbital (cf. condições cromatográficas e cromatograma, Fig. 31, p.134). A Fig. 32, (p.135) corresponde ao perfil cromatográfico de amostras de urinas consideradas normais (indivíduo não medicado, não fumante, não consumidor de café).

A confirmação da presença de fenobarbital na urina foi feita através da cromatografia gás-líquido acoplada à espectrometria de massa. Os fragmentos 204 (100%), 117 (59%), 115(30%), 77 (25%), 103 (21%) e  $M^+$  232 são referentes à fragmentação do fenobarbital.

A resposta dada pelo programa pelo processamento dos dados entrados para o paciente 1 é mostrada na Fig. 28, p.131

Paciente 2. Suspeita de intoxicação por lorazepan. A amostra foi obtida de acordo com o fluxograma (Fig. 36, p.156) a pH 10,0.

O resíduo obtido foi submetido a cromatografia de partição em papel (cf. parte experimental, item 8.8., p.150)

A mancha de coloração amarela (hRf = 92) do cromatograma obtido, possivelmente corresponde ao lorazepan.



Através da CLAF foi observado um pico cujo tempo de retenção 14,1 min. corresponde ao lorazepan (cf. condições cromatográficas e cromatograma, Fig. 33, p.136). A Fig. 34, p.137 corresponde ao perfil cromatográfico de amostras de urinas consideradas normais.

A confirmação da presença de lorazepan na urina foi feita através da cromatografia gás-líquido acoplada à espectrometria de massa. Os fragmentos 75 (100%), 111 (56%), 138 (46%), 239 (45%), 274 (23%) e  $M^+$  321 são referentes à fragmentação do lorazepan.

As respostas dadas pelo computador pelo processamento dos dados entrados para o paciente 2 são apresentadas na Fig.29 p.132

Paciente 3. Suspeita de intoxicação por propifenazona (tonopan). A amostra a ser submetida às análises cromatográficas foi obtida de acordo com o fluxograma (Fig. 36, p.156) a pH 10,0.

O resíduo assim obtido foi submetido a cromatografia de partição em papel (cf. parte experimental, item 8.8., p.150).

A mancha de coloração amarela ( $R_f = 95$ ) do cromatograma obtido, possivelmente corresponde a propifenazona.

Através da CLAE foi observado um pico cujo tempo de retenção 14,25 min. corresponde a propifenazona (cf. condições cromatográficas e cromatograma, Fig. 35, p.138). A Fig. 34, p.137 corresponde ao perfil cromatográfico de amostras de urinas consideradas normais.

As respostas dadas pelo computador pelo processamento dos dados entrados para o paciente 3 são mostradas na Fig. 30, p.133

As análises foram realizadas com objetivo qualitativo e não houve preocupação com os metabólitos, visto que nas intoxicações agudas, de maneira geral, quantidades detectáveis dos fármacos "in natura" são eliminadas através da urina.

Aplicação de técnicas diferentes de cromatografia, para a obtenção de parâmetros de identificação, justifica-se pela similaridade estrutural de muitos dos fármacos psicoativos e pela importância do resultado da análise toxicológica como determinante de conduta médica ou legal. A integração computadorizada desses dados e a sua comparação automática com dados arquivados de uma biblioteca de padrões autenticados, além de aumentar a confiabilidade dos resultados encontrados contribui para dirimir dúvidas de natureza subjetiva que porventura possam surgir no decurso da análise.

Tabela VI. Valores de hRf, em cromatografia de partição em papel, e comportamento das substâncias frente às revelações com agentes cromogênicos.

Substâncias	hRf	UV (254 nm)	Agentes cromogênicos		
			Reativo de Dragendorff (A)	Nitrato mercurioso vapor de NH <sub>3</sub> (B)	Verde de Bromo cresol (C)
Acetaminofen	-	AZ	-	-	-
Acetanilida	-	RXA	-	-	-
Ác. acetilsalicílico	84	-	LR	-	-
Ác. hipúrico	-	-	-	-	-
Ác. nicotínico	71	MF	AML	-	-
Alobarbital	75	AZV	-	BR	-
Aminofenazona	70	RX	RSM	-	-
Amitriptilina	79	BRA	AM	-	-
Anfetamina	86	RX	-	-	AZ
Bromazepan	86	RS	LR	-	-
Butalbital	86	BR	-	BR	-
Cafeína	77	RX	RS	-	-
Clordiazepóxido	82	RX	AM	-	-
Clorimipramina	83	BR	AM	-	-
Diazepan	91	AZ	AM	-	-
Dipiridamol	84	VRO	AM	-	-
Fenacetina	-	RXA	-	-	-
Fencanfamina	83	AZC	LR	-	-

Substâncias	hRf	UV (254 nm)	Agentes cromogênicos		
			Reativo de Eragendorff (A)	Nitrato mercurioso vapor de NH <sub>3</sub> (B)	Verde de Bromo- cresol (C)
Fenilpropanolamina	59	RX	-	-	AZ
Fenitoína	91	-	-	BR	-
Fenobarbital	44	AZV	-	BR	-
Flufenazina	80	AMP	LR	-	-
Flurazepan	79	AM	AM	-	-
Imipramina	81	BR	AM	-	-
Levomepromazina	81	AMP	LR	-	-
Lorazepan	92	BR	LR	-	-
Mazindol	80	RXC	AML	-	-
Medazepan	89	AMP	LR	-	-
Nafazolina*	71	RXC	LR	-	AZ
Nicotina	39	AZP	RS	-	-
Nitrazepan	88	MR	LR	-	-
Papaverina	72	BRA	AM	-	-
Propifenazona	95	RXC	AM	-	-
Propoxifeno	84	RXC	AML	-	-
Sulpiride	40	RX	LR	-	-
Trihexafenidil	88	-	AM	-	-

\* A Nafazolina também revelou com verde de Bromocresol no sistema de solvente (C), cujo valor de hRf = 66, UV-RX e revelou azul.

Adsorvente: papel Whatman 3<sup>m</sup>

Método: Ascendente

Sistema de solvente (A) - Butanol 98%/ác. fórmico/água (12/1/7)

(B) - Clorofórmio/isopropanol/amonia 25% (45/45/10)

(C) - Butanol/ác. fórmico/água (20/1/2).



## CÓDIGO DAS CORES USADO NA TABELA VI

AZ - Azul  
AM - Amarelo  
RXA - Roxo azulado  
LR - Laranja  
AZV - Azul violáceo  
BRA - Branco amarelado  
RS - Róseo  
RX - Roxo  
BR - Branco  
VRO - Verde opalescente  
AZC - Azul claro  
AMP - Amarelo pálido  
AZP - Azul pálido  
RXC - Roxo claro  
AML - Amarelo-laranja  
RSM - Rosa marrom  
MF - Marrom c/ fluorescência

Tabela VII. Valores dos tempos de retenção em CLAE, bem como eluentes e fluxos referentes às substâncias analisadas

Fármaco	Eluente (s)	Fluxo (ml/min)	Tempo de retenção
Acetaminofen	E1	0.6	$TR_{(1)} = 4,8 \text{ min}$
	E4	0.6	$TR_{(4)} = 9,6 \text{ min}$
	E9	1,0	$TR_{(9)} = 3,9 \text{ min}$
	E10	1,0	$TR_{(10)} = 5,1 \text{ min}$
	E11	1,0	$TR_{(11)} = 8,7 \text{ min}$
Acetanilida	E1	0.6	$TR_{(1)} = 5,4 \text{ min}$
	E4	0.6	$TR_{(4)} = 9,3 \text{ min}$
	E9	1,0	$TR_{(9)} = 6,75 \text{ min}$
Ácido acetilsalicílico	E4	0.6	$TR_{(4)} = 4,5 \text{ min}$
	E6	0.6	$TR_{(6)} = 8,55 \text{ min}$
	E8	0.6	$TR_{(8)} = 10,65 \text{ min}$
	E15	0.8	$TR_{(15)} = 5,70 \text{ min}$
Ácido hipúrico	E1	0.6	$TR_{(1)} = 3,15 \text{ min}$
	E2	1,0	$TR_{(2)} = 2,25 \text{ min}$
	E3	1,0	$TR_{(3)} = 2,25 \text{ min}$
	E4	1,0	$TR_{(4)} = 3,66 \text{ min}$
	E5	0.6	$TR_{(5)} = 3,75 \text{ min}$
	E6	0.6	$TR_{(6)} = 3,54 \text{ min}$
	E7	0.6	$TR_{(7)} = 3,60 \text{ min}$
	E8	0.6	$TR_{(8)} = 3,45 \text{ min}$
	E13	0.6	$TR_{(13)} = 3,60 \text{ min}$
	E14	0.6	$TR_{(14)} = 3,75 \text{ min}$
Ácido nicotínico	E15	0.6	$TR_{(15)} = 10,5 \text{ min}$

Fármaco	Eluente	Fluxo (ml/min)	Tempo de retenção
Alobarbitol	E1	0,6	TR <sub>(1)</sub> = 4,92 min
	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 5,91 min
	E6	0,6	TR <sub>(6)</sub> = 9,24 min
	E7	0,6	TR <sub>(7)</sub> = 14,25 min
Aminofenazona	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 29,4 min
Amitriptilina	E5	1,0	TR <sub>(5)</sub> = 38,25 min e 40,8 min
	E12	1,0	TR <sub>(2)</sub> = 28,95 min
	E15	0,8	TR <sub>(15)</sub> = 17,55 min
Anfetamina	E15	0,6	TR <sub>(15)</sub> = 5,7 min e 28,5 min
Bromazepam	E1	1,0	TR <sub>(1)</sub> = 5,25 min
	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 14,85 min
Butalbitol	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 7,65 min
	E6	0,6	TR <sub>(6)</sub> = 13,65 min
Cafeína	E1	0,6	TR <sub>(1)</sub> = 7,2 min
	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 9,0 min
	E5	1,0	TR <sub>(5)</sub> = 3,96 min
	E6	0,6	TR <sub>(6)</sub> = 13,05 min
	E7	0,6	TR <sub>(7)</sub> = 18,15 min
	E12	1,0	TR <sub>(12)</sub> = 4,20 min
	E15	1,0	TR <sub>(15)</sub> = 4,95 min
Clordiazepóxido	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 10,5 min
	E15	0,6	TR <sub>(15)</sub> = 7,8 min e 15,0 min
Clorimipramina	E5	1,0	TR <sub>(5)</sub> = 51,45 min e 54,6 min
	E12	1,0	TR <sub>(12)</sub> = 39,1 min
	E15	0,8	TR <sub>(15)</sub> = 21,15 min

Fármaco	Eluente (s)	Fluxo (ml/min)	Tempo de retenção
Diazepam	E1	1,0	TR <sub>(1)</sub> = 3,6 min
	E2	1,0	TR <sub>(2)</sub> = 4,35 min
	E3	1,0	TR <sub>(3)</sub> = 7,5 min
	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 33,95 min
Dipiridamol	E1	1,0	TR <sub>(1)</sub> = 6,3 min
Fenacetina	E1	0,6	TR <sub>(1)</sub> = 5,25 min
	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 9,15 min
	E9	1,0	TR <sub>(9)</sub> = 10,5 min
Fencanfamina	E12	1,0	TR <sub>(12)</sub> = 8,25 min
Fenilpropanolamina	E15	0,6	TR <sub>(15)</sub> = 5,7 min
Fenitoína	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 8,55 min
Fenobarbital	E1	0,6	TR <sub>(1)</sub> = 4,5 min
	E3	1,0	TR <sub>(3)</sub> = 3,30 min
	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 7,05 min
	E6	0,6	TR <sub>(6)</sub> = 10,05 min
	E7	0,6	TR <sub>(7)</sub> = 16,5 min
	E8	0,6	TR <sub>(8)</sub> = 4,8 min
Flufenazina	E5	1,0	TR <sub>(5)</sub> = 42,6 min
	E12	1,0	TR <sub>(12)</sub> = 8,25 min
	E15	1,0	TR <sub>(15)</sub> = 13,95 min
Flurazepan	E1	1,0	TR <sub>(1)</sub> = 24,6 min
	E4	1,0	TR <sub>(4)</sub> = 13,65 min
Imipramina	E5	1,0	TR <sub>(5)</sub> = 32,4 e 34,2 min
	E12	1,0	TR <sub>(12)</sub> = 25,95 min
	E15	0,8	TR <sub>(15)</sub> = 16,35 min



Fármaco	Eluente(s)	Fluxo (ml/min)	Tempo de retenção
Levomepromazina	E5	1,0	TR <sub>(5)</sub> = 38,1 min
	E12	1,0	TR <sub>(12)</sub> = 17,40 min
	E15	1,0	TR <sub>(15)</sub> = 17,55 min
Lorazepan	E1	1,0	TR <sub>(1)</sub> = 3,3 min
	E2	1,0	TR <sub>(2)</sub> = 3,45 min
	E3	1,0	TR <sub>(3)</sub> = 3,9 min
	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 14,1 min
Mazindol	E15	0,6	TR <sub>(15)</sub> = 9,90 min
Medazepan	E1	1,0	TR <sub>(1)</sub> = 5,55 min
	E2	1,0	TR <sub>(2)</sub> = 9,45 min
	E3	1,0	TR <sub>(3)</sub> = 20,1 min
Nafazolina	E5	1,0	TR <sub>(5)</sub> = 9,9 min
	E12	1,0	TR <sub>(12)</sub> = 5,85 min
	E15	0,6	TR <sub>(15)</sub> = 9,6 min
Nicotina	E5	1,0	TR <sub>(5)</sub> = 7,5 min
	E12	1,0	TR <sub>(12)</sub> = 3,15 min
	E15	1,0	TR <sub>(15)</sub> = 4,95 min
Nitrazepan	E1	1,0	TR <sub>(1)</sub> = 2,85 min
	E2	1,0	TR <sub>(2)</sub> = 3,6 min
	E3	1,0	TR <sub>(3)</sub> = 3,9 min
	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 13,5 min
Papaverina	E5	1,0	TR <sub>(5)</sub> = 14,55 min
	E12	1,0	TR <sub>(12)</sub> = 6,30 min
	E15	1,0	TR <sub>(15)</sub> = 5,70 min
Propifenazona	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 14,55 min

Fármaco	Eluente (s)	Fluxo (ml/min)	Tempo de retenção
Propoxifeno	E15	0,6	TR <sub>(15)</sub> = 12,0 min
Sulpiride	E5	1,0	TR <sub>(5)</sub> = 4,35min
	E12	1,0	TR <sub>(12)</sub> = 3,30 min
	E15	1,0	TR <sub>(15)</sub> = 3,90 min
Trihexafenidil	E15	0,6	TR <sub>(15)</sub> = 13,5 min
Warfarina	E4	0,6	TR <sub>(4)</sub> = 11,4 min

Códigos dos eluentes usados em CLAE

E<sub>1</sub> = (H<sub>2</sub>O/MeOH) (0/100)

E<sub>2</sub> = (H<sub>2</sub>O/MeOH) (10/90)

E<sub>3</sub> = (H<sub>2</sub>O/MeOH) (20/80)

E<sub>4</sub> = (H<sub>2</sub>O/MeOH) (40/60)

E<sub>5</sub> = (H<sub>2</sub>O com KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 5.2)/CH<sub>3</sub>CN) (50/50)

E<sub>6</sub> = (H<sub>2</sub>O/MeOH) (50/50)

E<sub>7</sub> = (H<sub>2</sub>O/MeOH) (60/40)

E<sub>8</sub> = (H<sub>2</sub>O/MeOH) (90/10)

E<sub>9</sub> = (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN) (70/30)

E<sub>10</sub> = (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN) (80/20)

E<sub>11</sub> = (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN) (90/10)

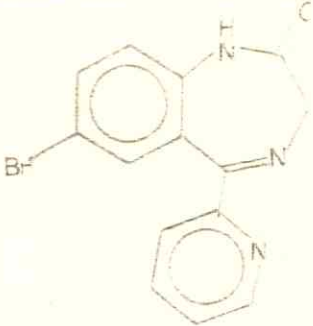
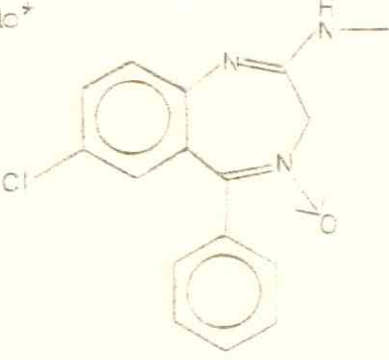
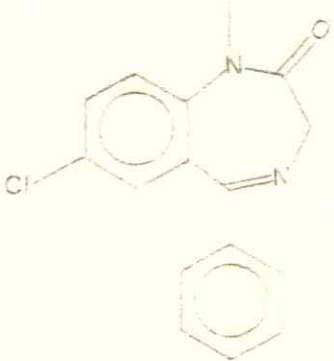
E<sub>12</sub> = (H<sub>2</sub>O com KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 3.1)/CH<sub>3</sub>CN) (50/50)

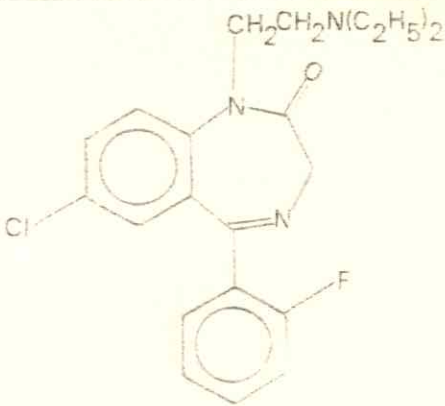
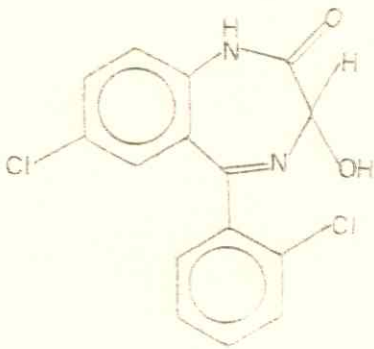
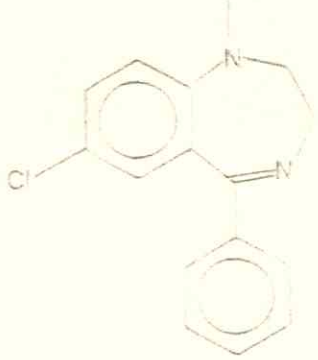
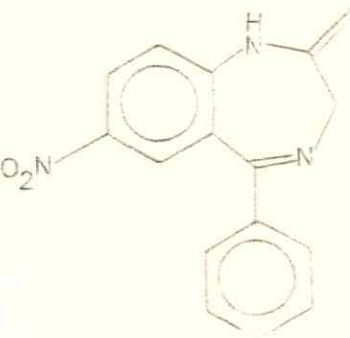
E<sub>13</sub> = (H<sub>2</sub>O/MeOH) (70/30)

E<sub>14</sub> = (H<sub>2</sub>O/MeOH) (100/0)

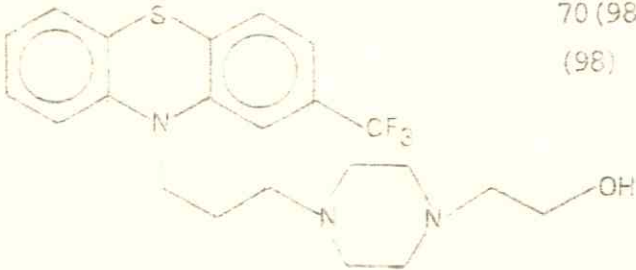
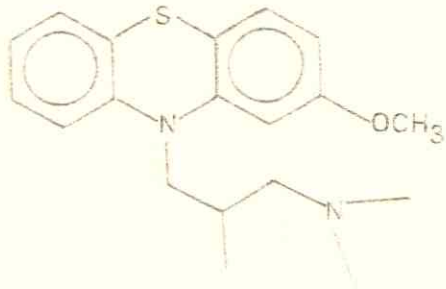
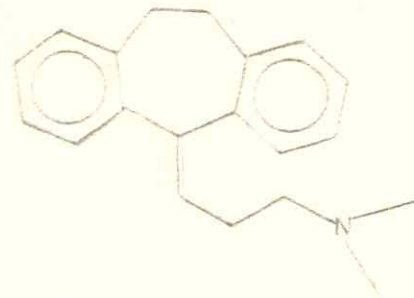
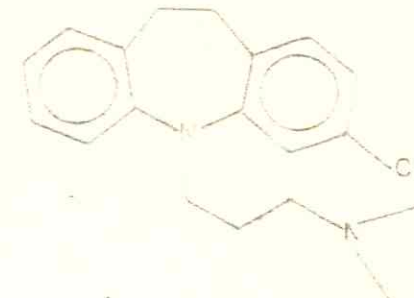
E<sub>15</sub> = (H<sub>2</sub>O com KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 3.1)/MeOH) (30/70)

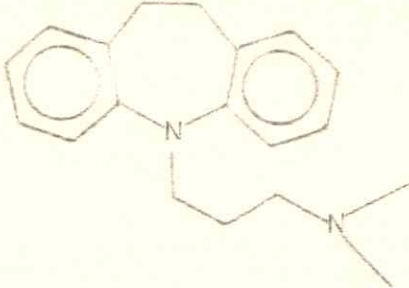
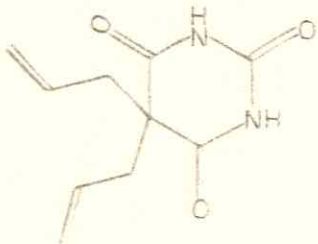
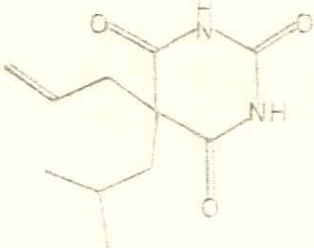
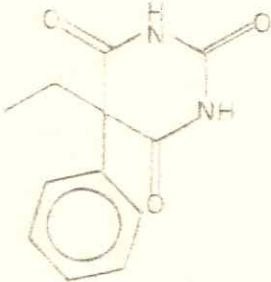
Tabela VIII. Principais fragmentos das substâncias analisadas por espectrometria de massa a 70ev.

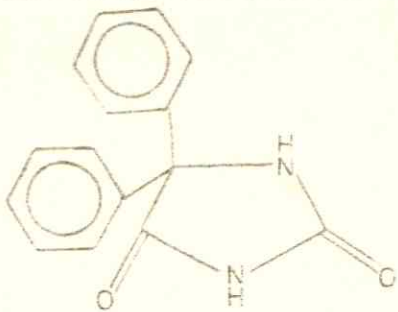
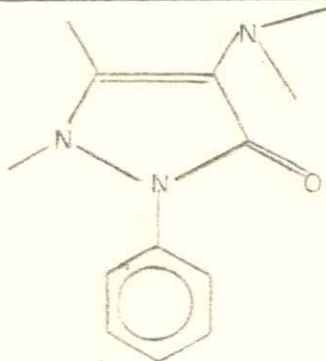
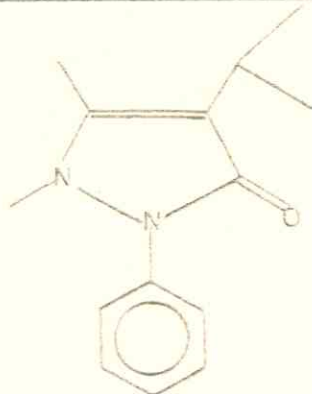
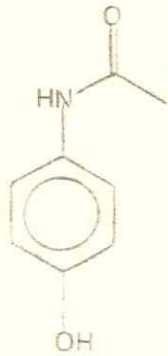
Composto	Estrutura	Principais fragmentos (intensidade)
Bromazepam $C_{14}H_{10}BrN_3O$ $M^+$ 315 pico base 236		236 (100), 78 (96), 77 (95), 207 (80), 179 (61)
Clordiazepóxido* $C_{16}H_{14}ClN_3O$ $M^+$ 299 pico base 282		282 (100), 283 (41), 284 (32), 299 (25), 241 (20)
Diazepam $C_{16}H_{13}ClN_2O$ $M^+$ 284 pico base 256		256 (100), 283 (68), 284 (58), 221 (48), 257 (40)

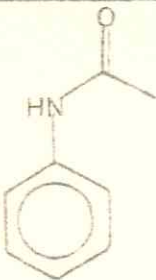
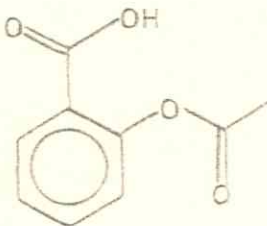
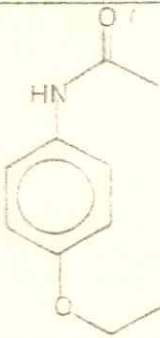
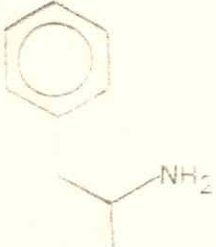
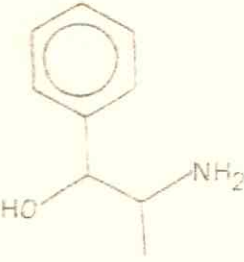
Composto	Estrutura	Principais fragmentos (intensidade)
Flurazepan $C_{21}H_{23}ClFN_3O$ M <sup>r</sup> 387 pico base 86		86 (100), 58 (10), 99 (9), 87 (8), 56 (8)
Lorazepan $C_{15}H_{10}Cl_2N_2O_2$ M <sup>r</sup> 320 pico base 75		75 (100), 111 (56), 138 (46), 239 (45), 274 (23)
Medazepan $C_{16}H_{15}ClN_2$ M <sup>r</sup> 270 pico base 207		207 (100), 242 (98), 91 (35), 165 (29), 270 (25)
Nitrazepan $C_{17}H_{11}N_3O_3$ M <sup>r</sup> 281 pico base 207		207 (100), 44 (98), 253 (55), 281 (52), 234 (42)



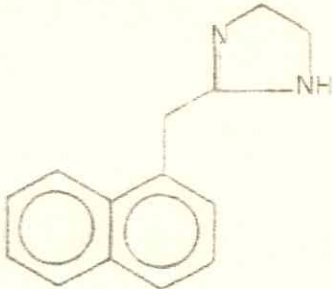
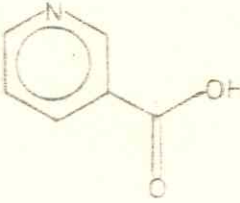
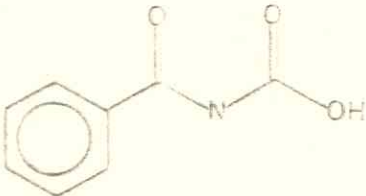
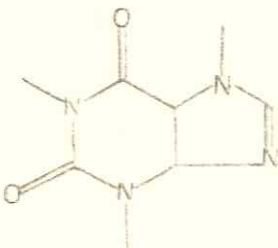
Composto	Estrutura	Principais frag- mentos (intensida- de)
Flufenazina* $C_{22}H_{26}F_3N_3OS$ $M^+$ 437 Pico base 42		42 (100), 280 (100), 70 (98), 56 (98), 143 (98)
Levomepromazina $C_{19}H_{24}N_2OS$ $M^+$ 328 pico base 269		269 (100), 185 (75), 228 (60), 328 (37,5), 229 (37)
Amitriptilina $C_{20}H_{23}N$ $M^+$ 277 pico base 58		58 (100), 218 (13), 217 (10), 202 (10), 101 (8)
Clorimipramina $C_{19}H_{23}ClN_2$ $M^+$ 314 pico base 58		58 (100), 254 (58), 85 (48), 255 (45), 219 (33)

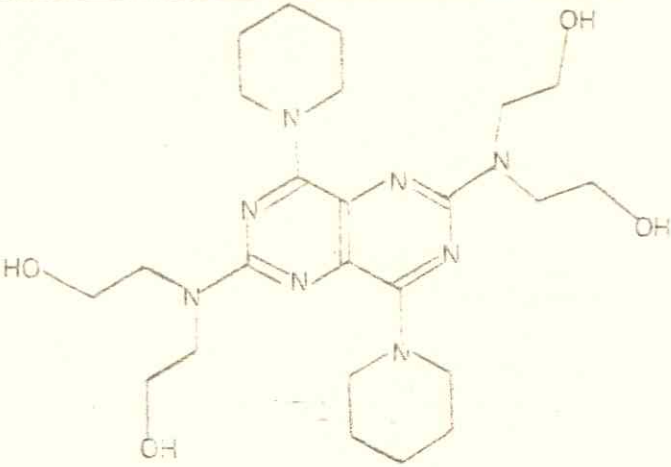
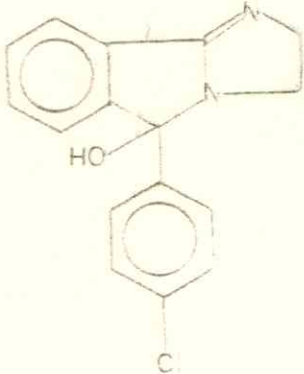
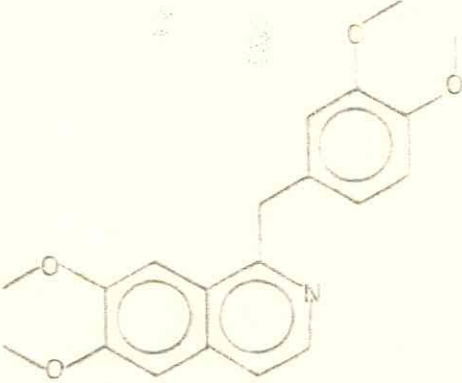
Composto	Estrutura	Principais fragmen- tos (intensidade)
Imipramina $C_{19}H_{24}N_2$ $M^+ 280$ pico base 58		58 (100), 234 (40), 193 (37,5), 235 (35), 194 (34)
Alobarbital $C_{10}H_{12}N_2O_3$ $M^+ 208$ pico base 167		167 (100), 124 (85), 80 (60), 41 (60), 166 (59)
Butalbital $C_{11}H_{16}N_2O_3$ $M^+ 224$ pico base 168		168 (100), 167 (71), 41 (20,1), 124 (20), 141 (15)
Fenobarbital $C_{12}H_{12}N_2O_3$ $M^+ 232$ pico base 204		204 (100), 117 (59), 115 (30), 77 (25), 103 (21)

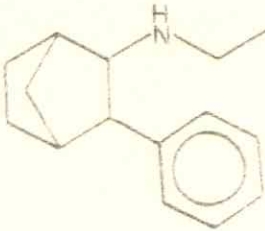
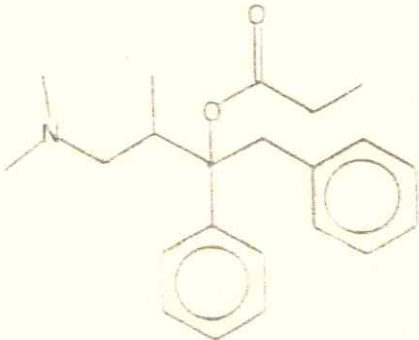
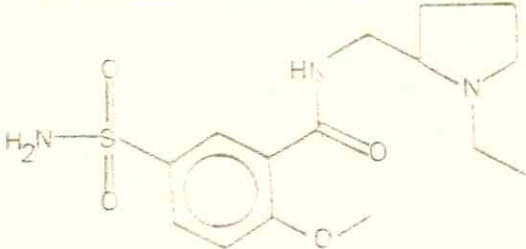
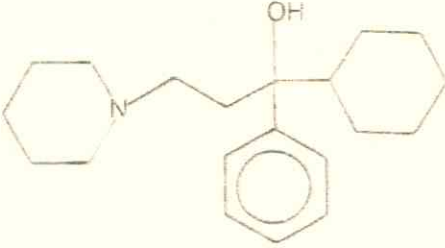
Composto	Estrutura	Principais fragmentos (intensidade)
Fenitoína* $C_{15}H_{12}N_2O_2$ $M^+$ 252 pico base 180		180 (100), 104 (68), 252 (60), 223 (55), 209 (52)
Aminofenazona $C_{13}H_{17}N_3O$ $M^+$ 231 pico base 56		56 (100), 231 (75), 97 (48), 111 (20), 77 (11)
Propifenazona $C_{14}H_{18}N_2O$ $M^+$ 230		
Acetaminofen $C_8H_9NO_2$ $M^+$ 151 pico base 109		109 (100), 80 (30), 151 (21), 81 (21), 108 (16)

Composto	Estrutura	Principais fragmentos (intensidade)
Acetanilida $C_8H_9NO$ $M^+$ 135 pico base 93		93 (100), 135 (72,5), 92 (11), 43 (10), 65 (9)
Ácido acetilsalicílico $C_9H_8O_4$ $M^+$ 180 pico base 120		120 (100), 138 (60), 92 (55), 121 (12), 93 (9)
Fenacetina $C_{10}H_{13}NO_2$ $M^+$ 179 pico base 109		109 (100), 108 (99,9), 179 (80), 137 (50), 43 (37,5)
Anfetamina $C_9H_{13}N$ $M^+$ 135 pico base 44		44 (100), 91 (10), 39 (10), 65 (9), 42 (8)
Fenilpropanolamina $C_9H_{13}NO$ $M^+$ 151		



Composto	Estrutura	Principais fragmen- tos (intensidade)
Nafazolina $C_{14}H_{14}N_2$ $M^+$ 210		
Nicotina $C_{10}H_{14}N_2$ $M^+$ 162 pico base 84		84 (100), 133 (30), 42 (30), 162 (14), 161 (13).
Ácido nicotínico* $C_6H_5NO_2$ $M^+$ 123 pico base 79.		79 (100), 52 (31), 78 (30), 51 (21), 50 (11)
Ácido hipúrico $C_8H_7NO_3$ $M^+$ 179 pico base 105		105 (100), 77 (36), 161 (13), 117 (12,5), 135 (12,5)
Cafeína $C_8H_{10}N_4O_2$ $M^+$ 194 pico base 194		194 (100), 109 (90), 67 (59), 55 (36), 82 (30)

Composto	Estrutura	Principais fragmen- tos (intensidade)
Dipiridamol $C_{24}H_{40}N_8O_4$ $M^+$ 504		
Mazindol $C_{16}H_{13}ClN_2O$ $M^+$ 284		
Papaverina* $C_{20}H_{21}NO_4$ $M^+$ 339 Pico base 324		324 (100), 338 (95), 339 (75), 308 (28), 325 (21)

Composto	Estrutura	Principais fragmen- tos (intensidade)
Fencanfamina $C_{15}H_{21}N$ $M_r$ 215 pico base 98		98(100), 215(69), 58(62,5), 91(51), 84(48)
Propoxifeno* $C_{22}H_{29}NO_2$ $M_r$ 339 pico base 58		58(100), 57(10), 59(9), 91(9), 105 (5)
Sulpiride $C_{15}H_{23}N_3O_4S$ $M_r$ 341		
Trihexafenidil $C_{20}H_{31}NO$ $M_r$ 301		

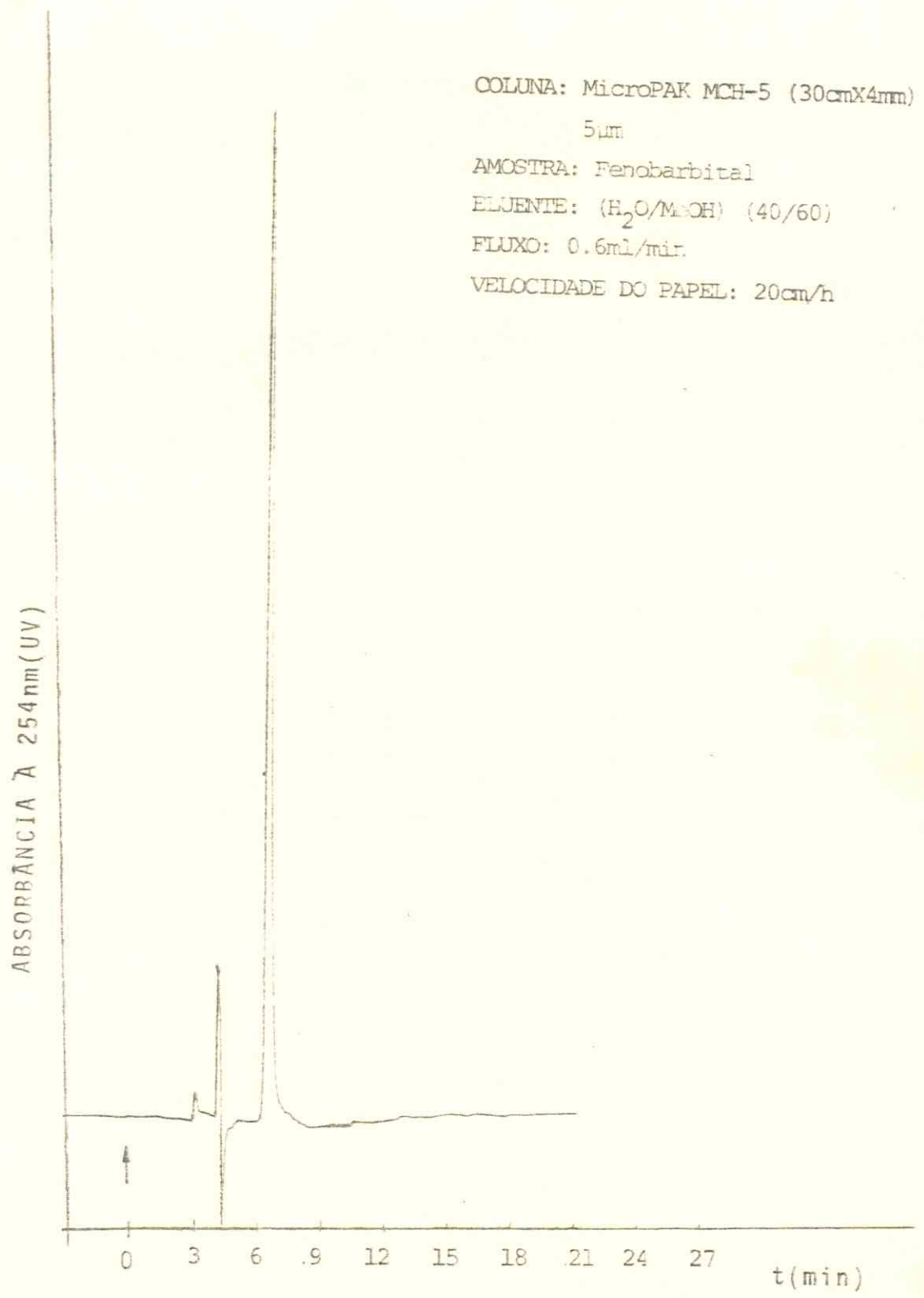


Fig. 5. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do fenobarbital.



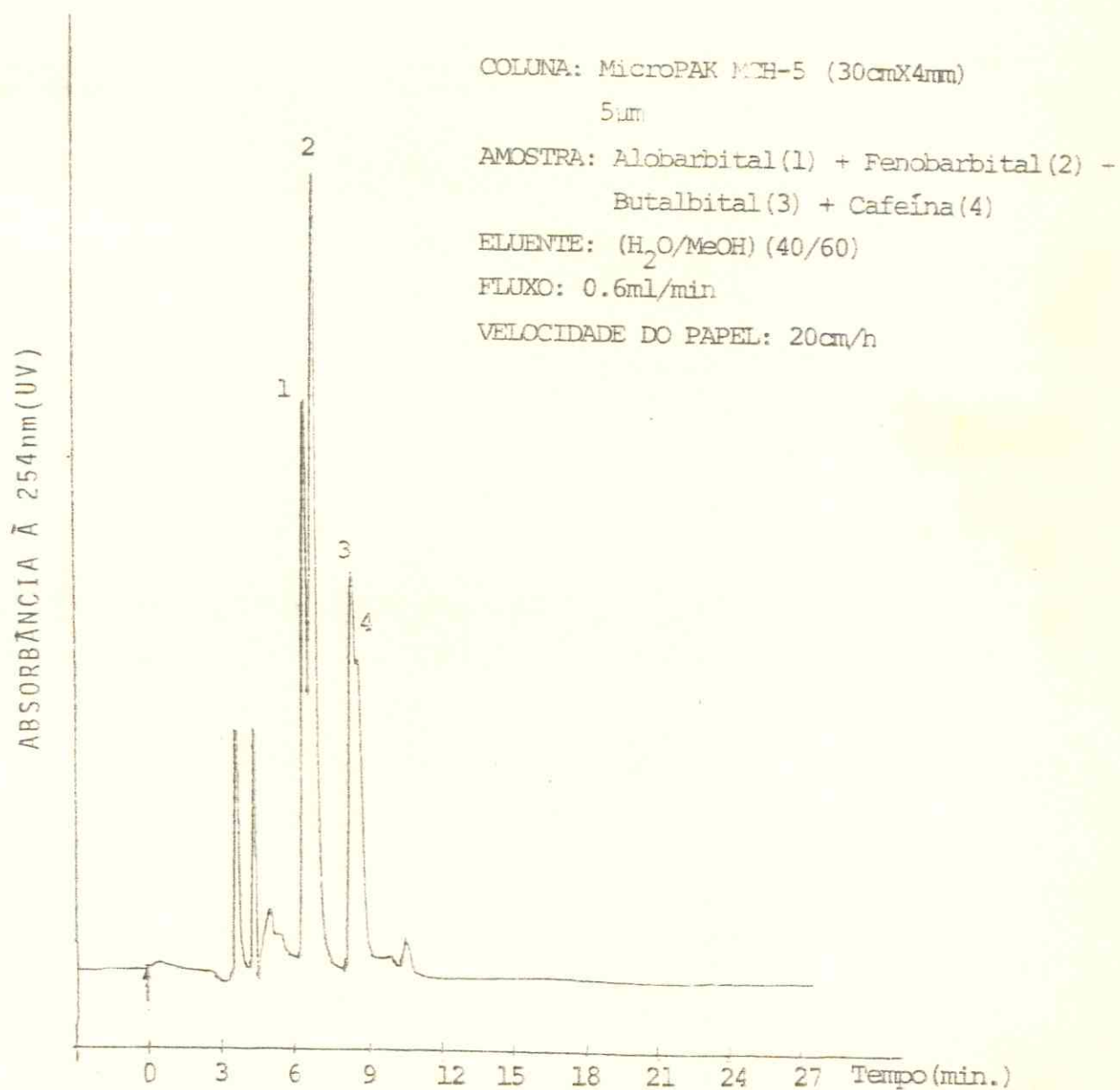


Fig. 6. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da mistura de 4 drogas barbitúricas com cafeína.

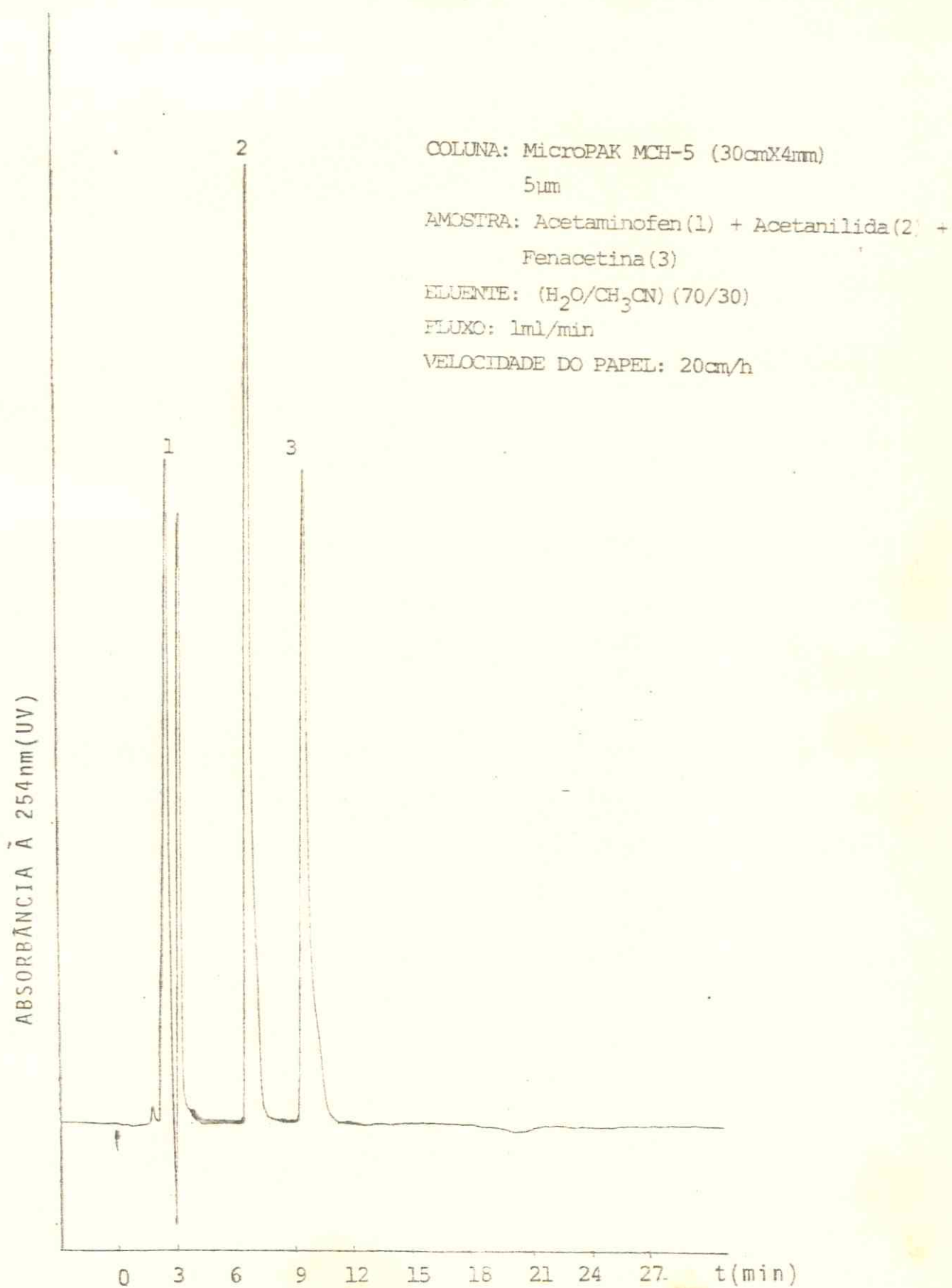


Fig. 7. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da mistura de 3 drogas analgésicas antipiréticas derivadas do paraminofenol.

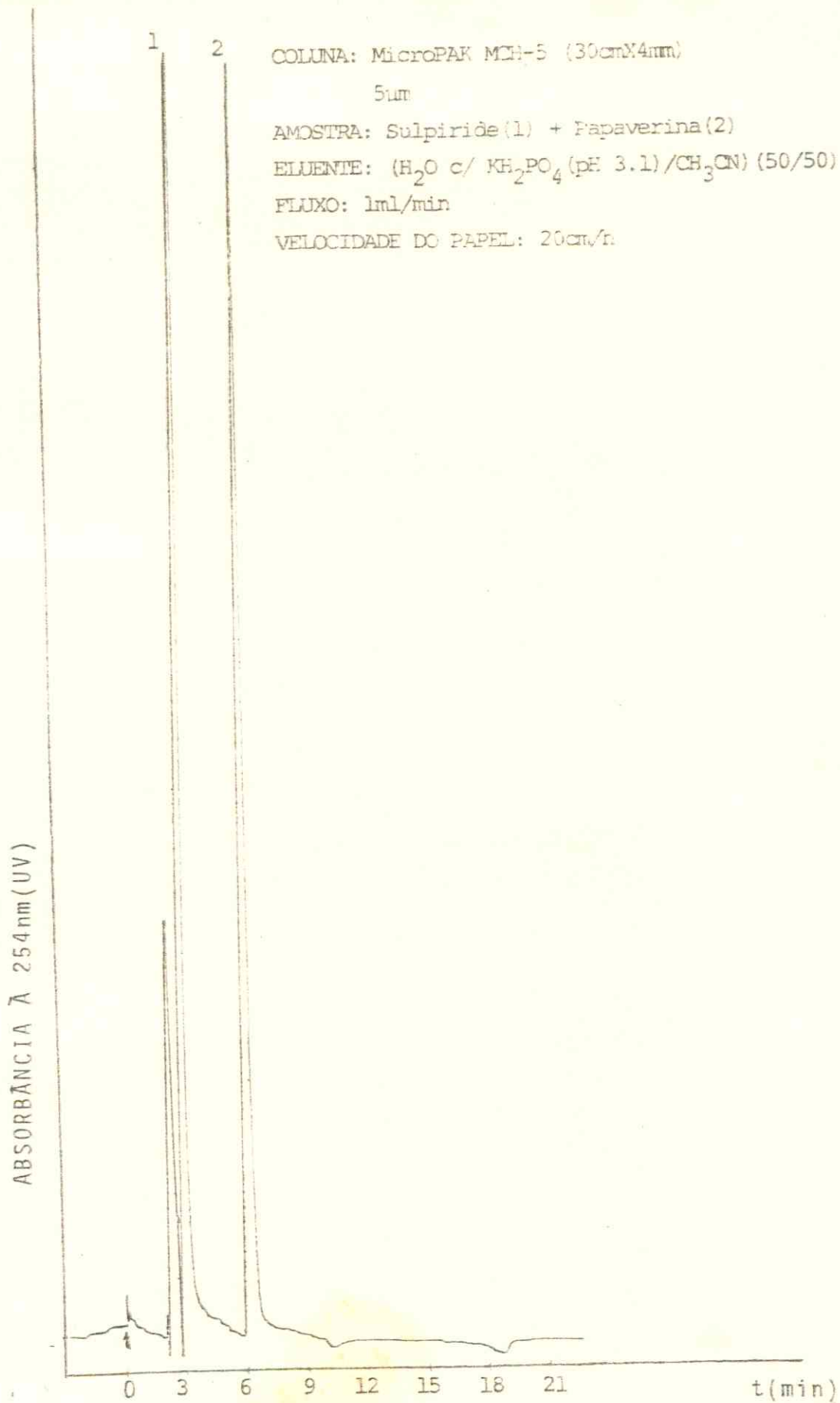


Fig. 8. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da mistura de 2 drogas alcaloidicas.

COLUNA: MicroPAV MCH-5 (30cmX4mm)

5 $\mu$ m

AMOSTRA: Nicotina(1) + Cafeína + Flufenazina(2) +  
Levomepromazina(3)

ELUENTE: (H<sub>2</sub>O c/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 3.1)/CH<sub>3</sub>CN) (50/50)

FLUXO: 1ml/min

VELOCIDADE DO PAPEL: 20cm/h

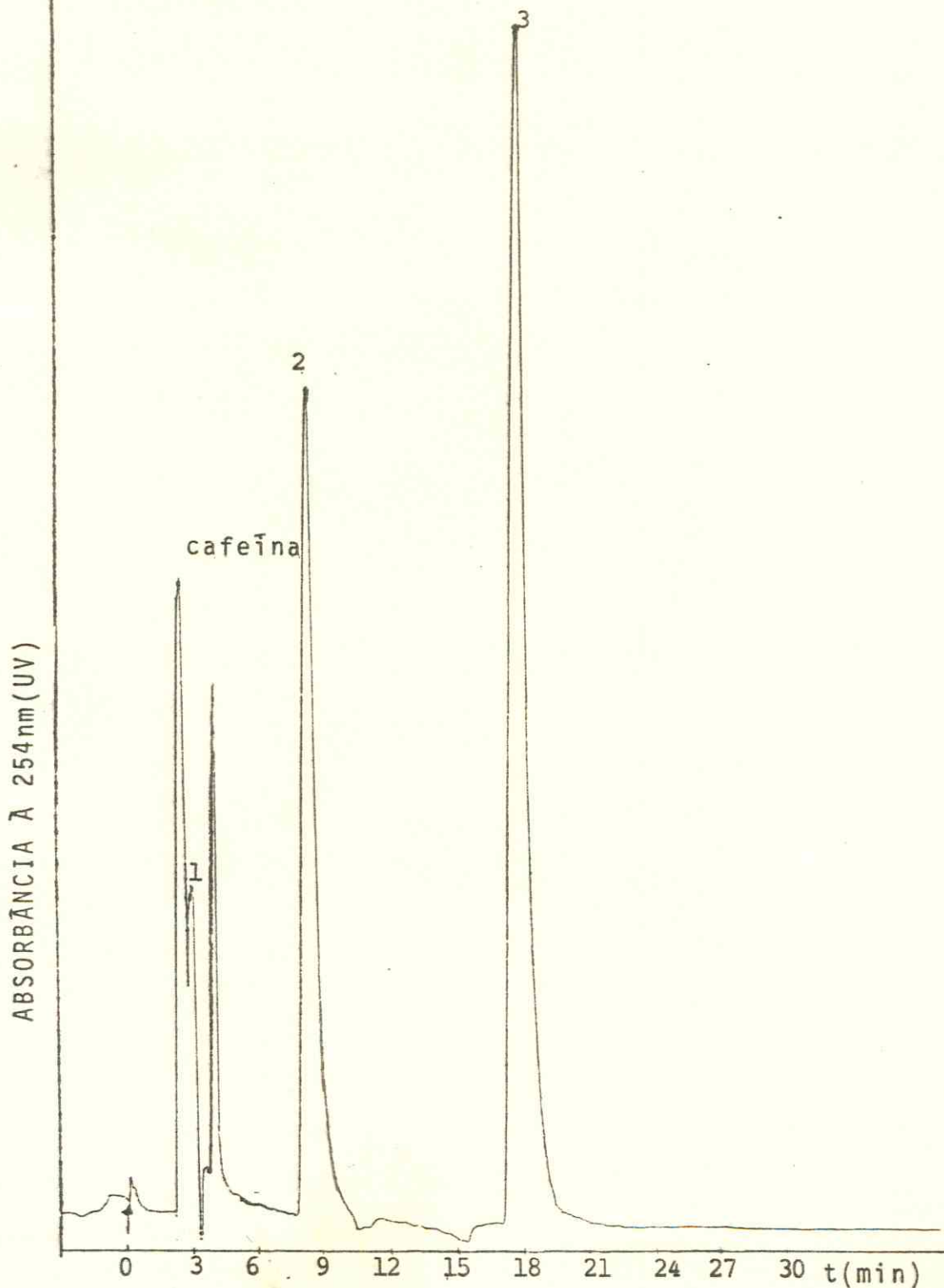


Fig. 9. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da mistura de 2 drogas antipsicóticas e fenotiazínicas com nicotina e cafeína.



COLUNA: MicroPAK MCH-5 (30cmX4mm)

5 $\mu$ m

AMOSTRA: Imipramina(1) + Amitriptilina(2) + Clo-  
rimipramina(3)

ELUENTE: (H<sub>2</sub>O c/ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 3.1)/CH<sub>3</sub>CN) (50/50)

FLUXO: 1ml/min

VELOCIDADE DO PAPEL: 20cm/h

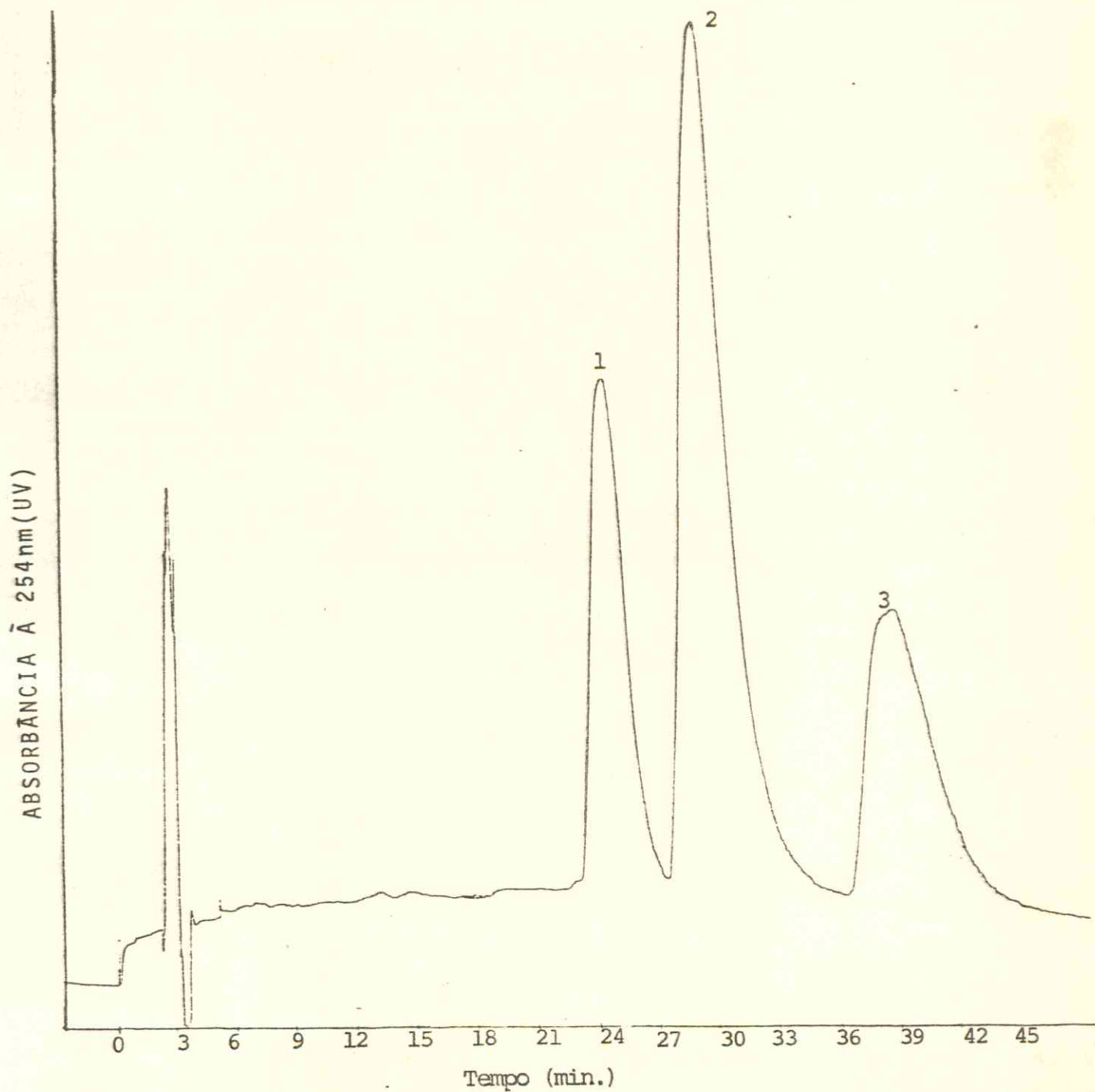


Fig. 10. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da mistura de 3 drogas antidepressivas tricíclicas (imipramínicas).

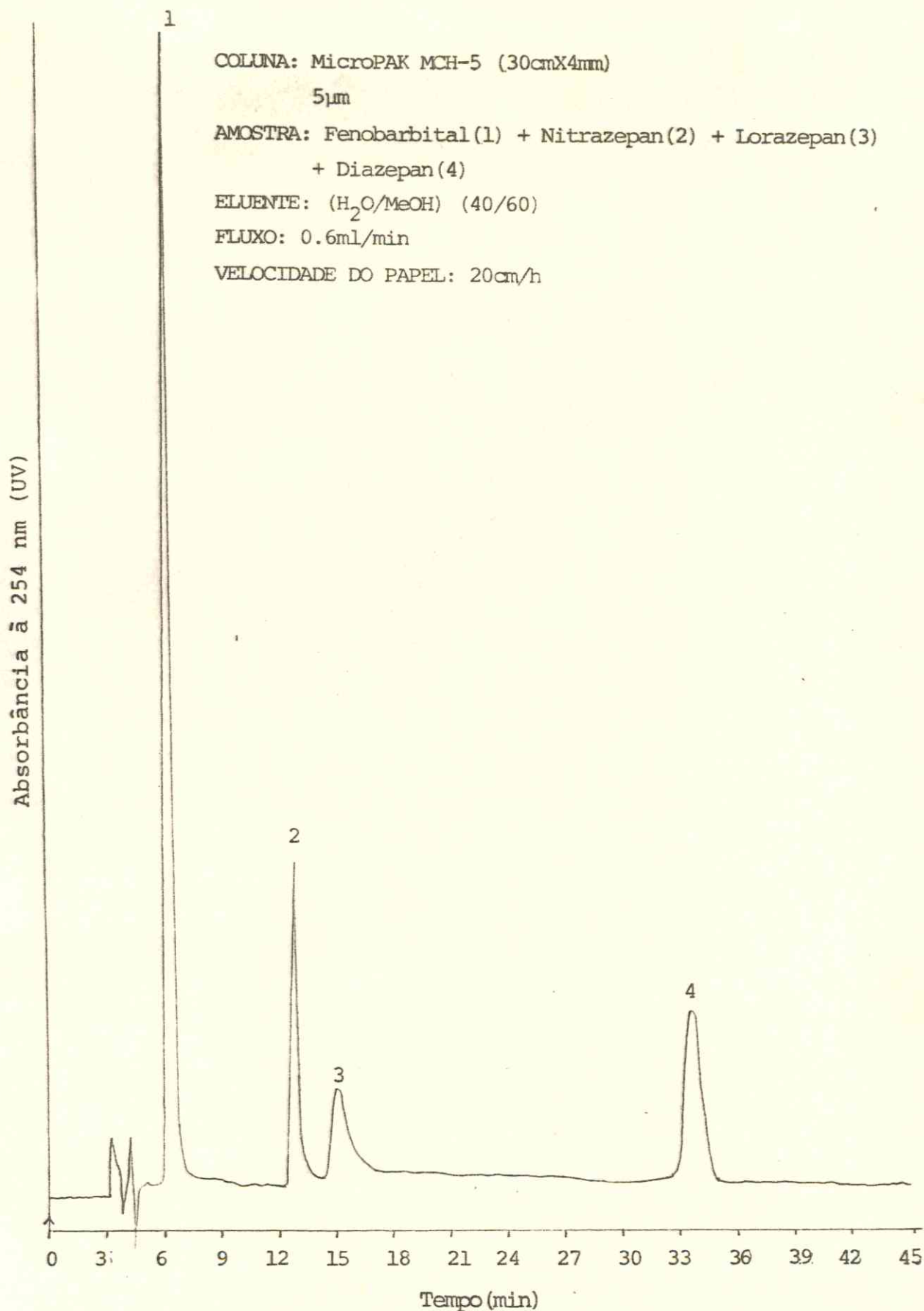


Fig. 11. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da mistura de 3 drogas ansiolíticas benzodiazepínicas com 1 droga barbitúrica.

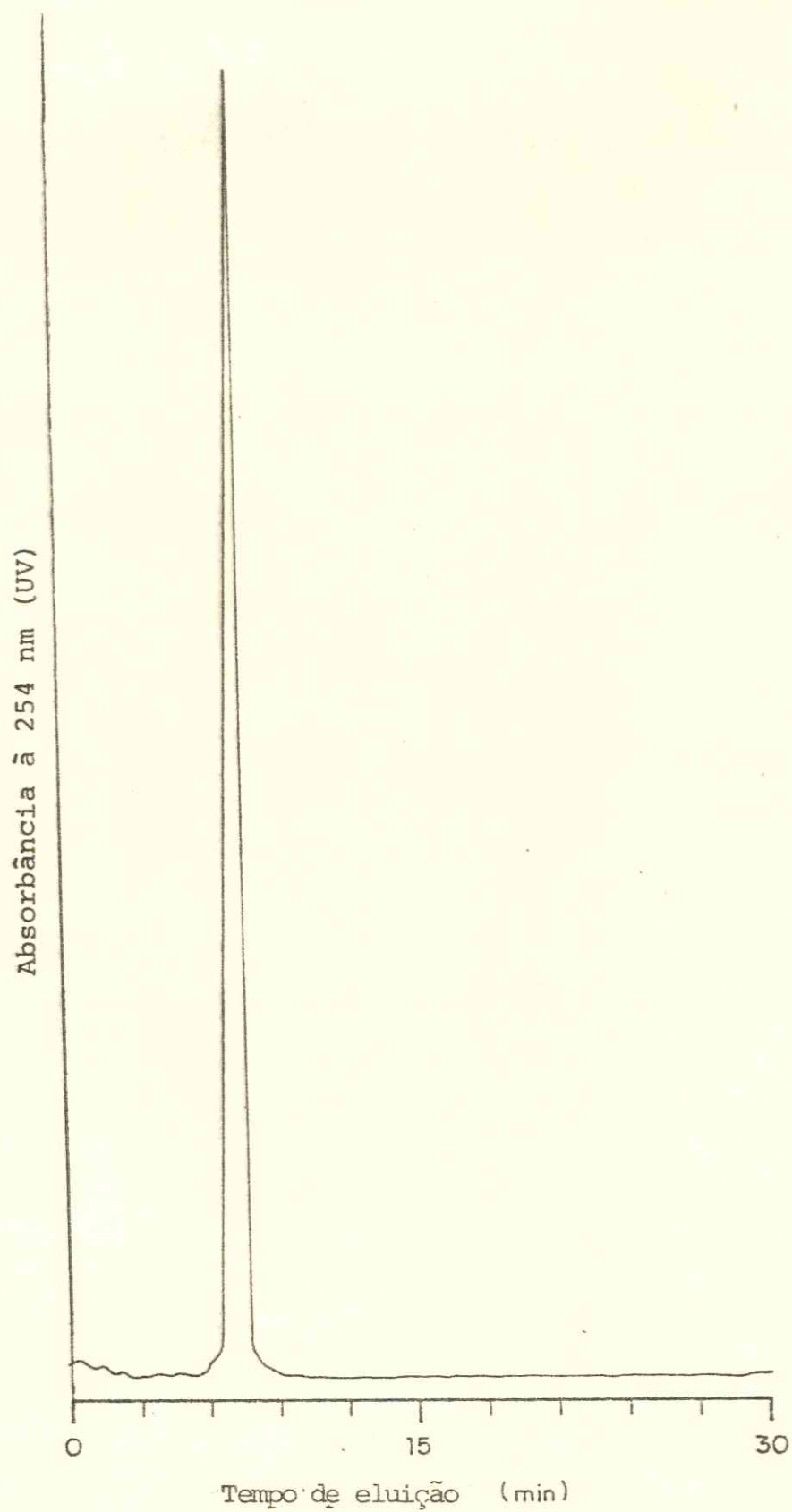


Fig. 12. Perfil da eluição da N-benzoil-etanolamina condições cromatográficas (cf. Fig. 14).

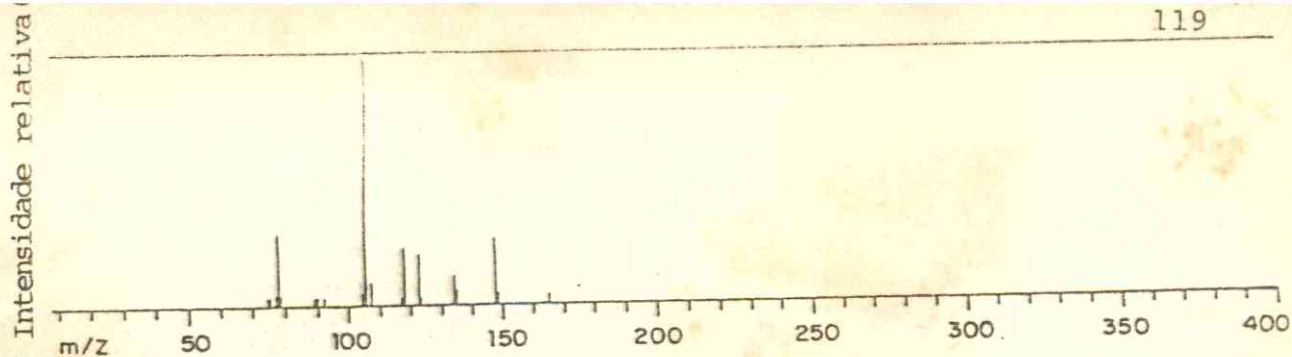


Fig. 13. Espectro de massa (70eV) da N-benzoil-etanolamina.

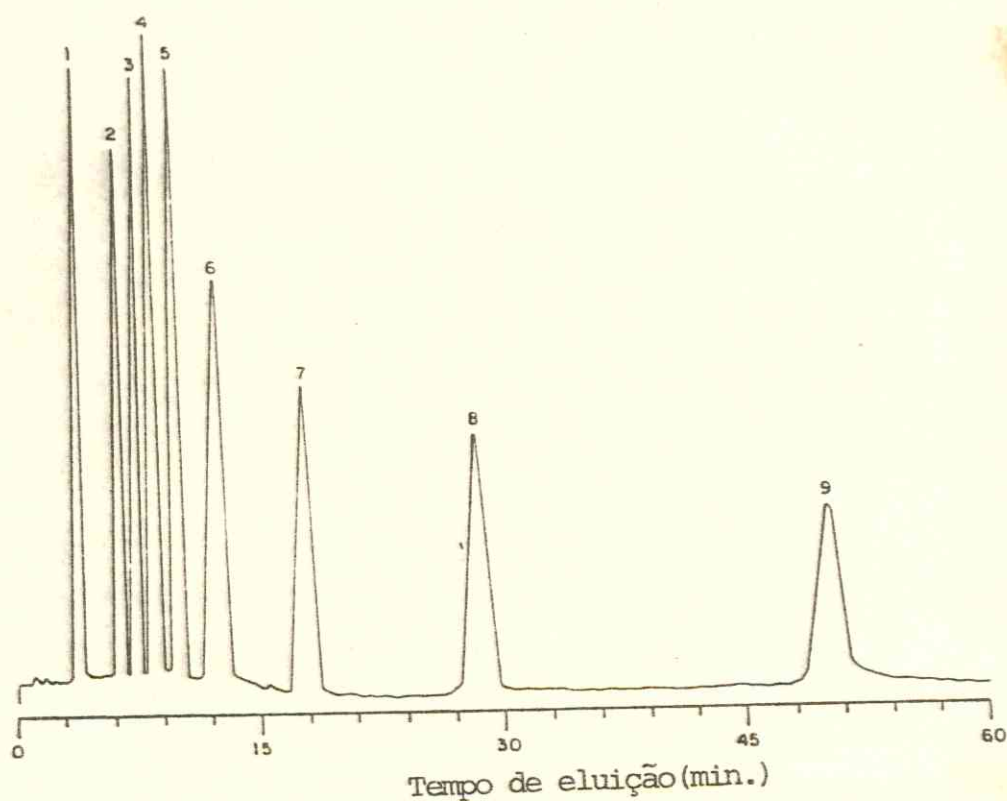


Fig. 14. Perfil de eluição de 8 aminas e glicina derivatizadas com cloreto de benzoila.

Condições cromatográficas: coluna MicroPAK MCH-5; diâmetro interno: 300 x 4,6mm; monitor UV a 254nm; 1,0 "a.u.f.s." solvente (água/metanol) (50/50). Os picos correspondem as seguintes aminas (ca. 1 mg/ml dos derivados de cada em metanol): 1-glicina; 2-dietanolamina; 3-etanolamina; 4-metilamina; 5-etilamina; 6-isopropilamina; 7-isobutilamina; 8-piperidina; 9-diisopropilamina.



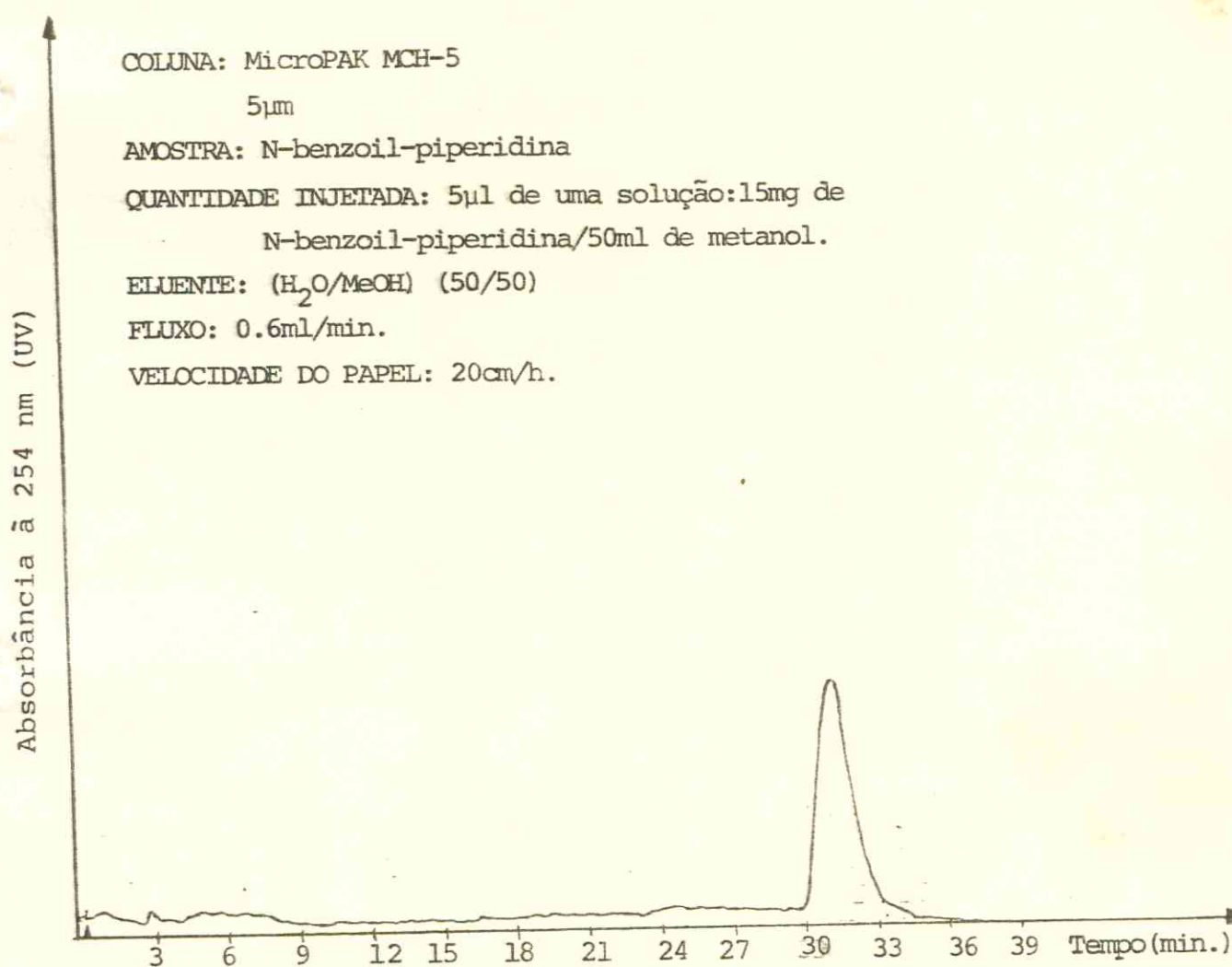


Fig. 15. CLAE de N-benzoil-piperidina.

COLUNA: MicroPAK MJH-5

5 $\mu$ m

121

AMOSTRA: Extrato etanólico da pimenta do reino benzoilado.

QUANTIDADE INJETADA: 5 $\mu$ l de uma solução do extrato etanólico da pimenta do reino benzoilado em 2,3ml de metanol.

ELUENTE: (H<sub>2</sub>O/MeOH) (50/50)

FLUXO: 0.6ml/min.

VELOCIDADE DO PAPEL: 20cm/h.

Absorbância à 254 nm (UV)

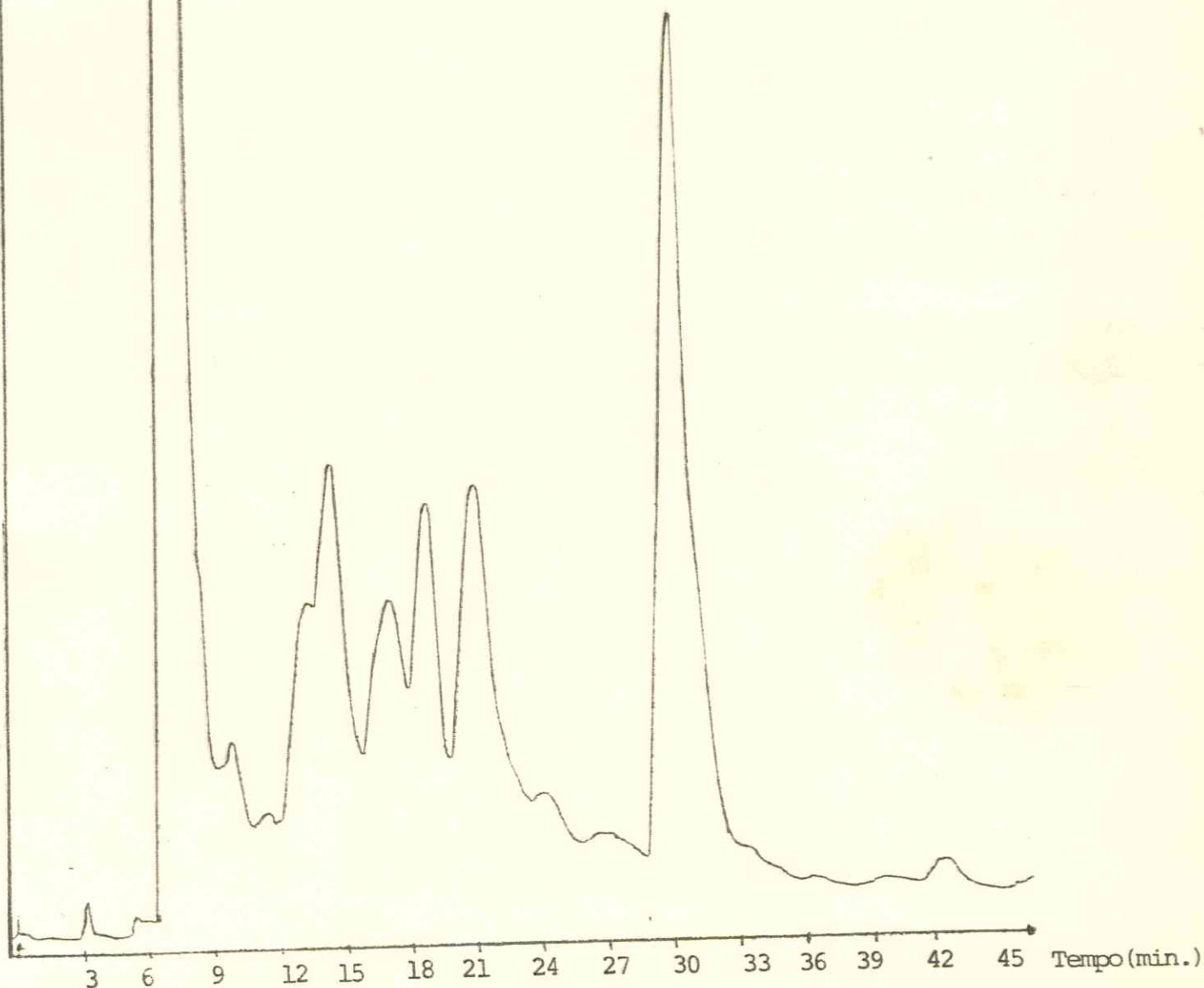


Fig. 16. CLAE do extrato etanólico da pimenta do reino submetido a derivatização com cloreto de benzoila.

COLUNA: MicroPAK MCH-5  
5 $\mu$ m

122

AMOSTRA: Coinjeção de N-benzoil-piperidina +  
extrato etanólico da pimenta do rei  
no benzoilada.

QUANTIDADE INJETADA: 2 $\mu$ l de uma solução: 15mg  
de N-benzoil-piperidina/50ml de meta  
nol + 5 $\mu$ l de uma solução do extrato  
etanólico derivatizado em 2,3ml de  
metanol.

ELUENTE: (H<sub>2</sub>O/MeOH) (50/50)

FLUXO: 0,6ml/min.

VELOCIDADE DO PAPEL: 20cm/h

Absorbância à 254 nm (UV)

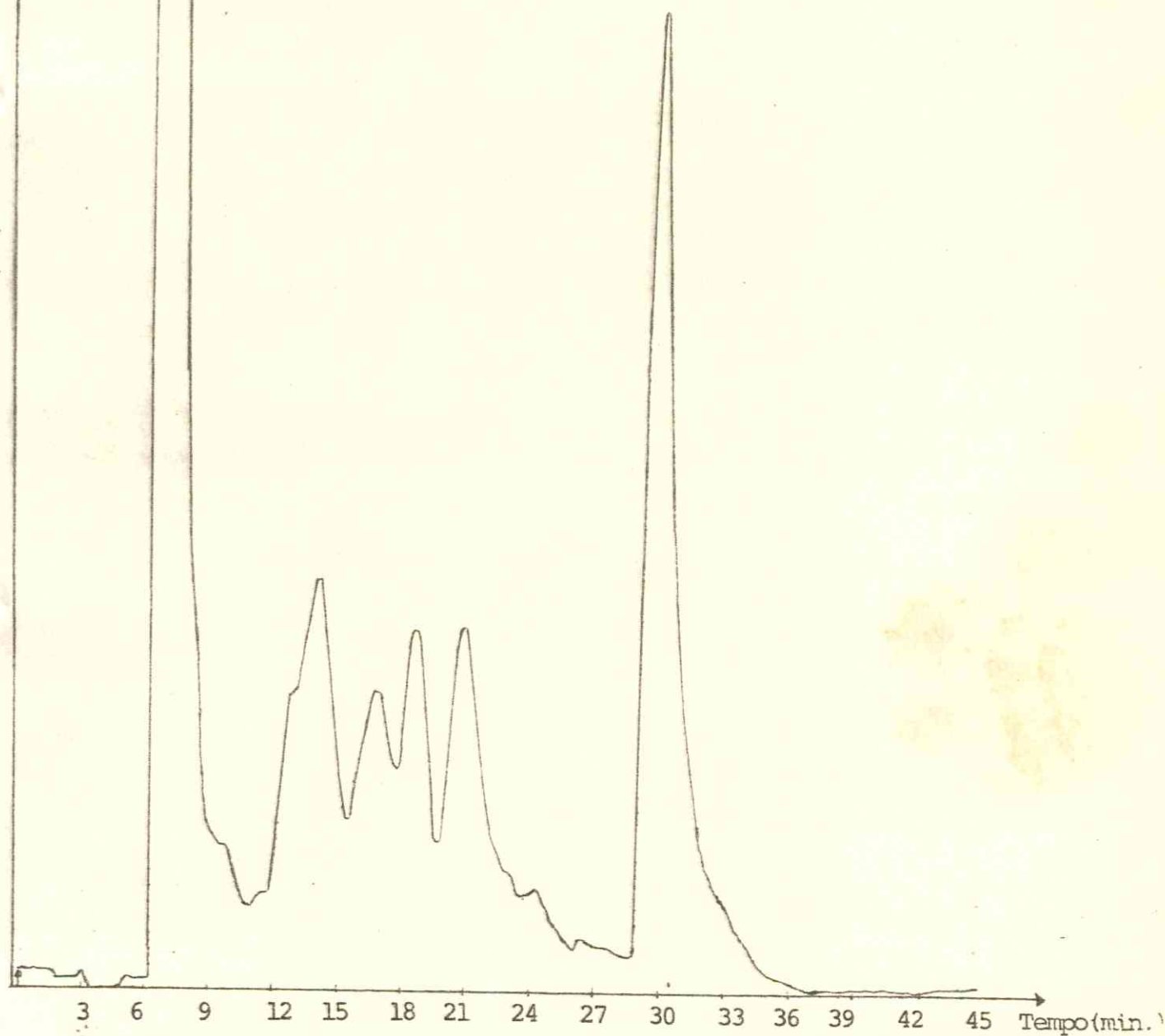


Fig. 17. CLAE da coinjeção de N-benzoil-piperidina  
com a amostra em análise.

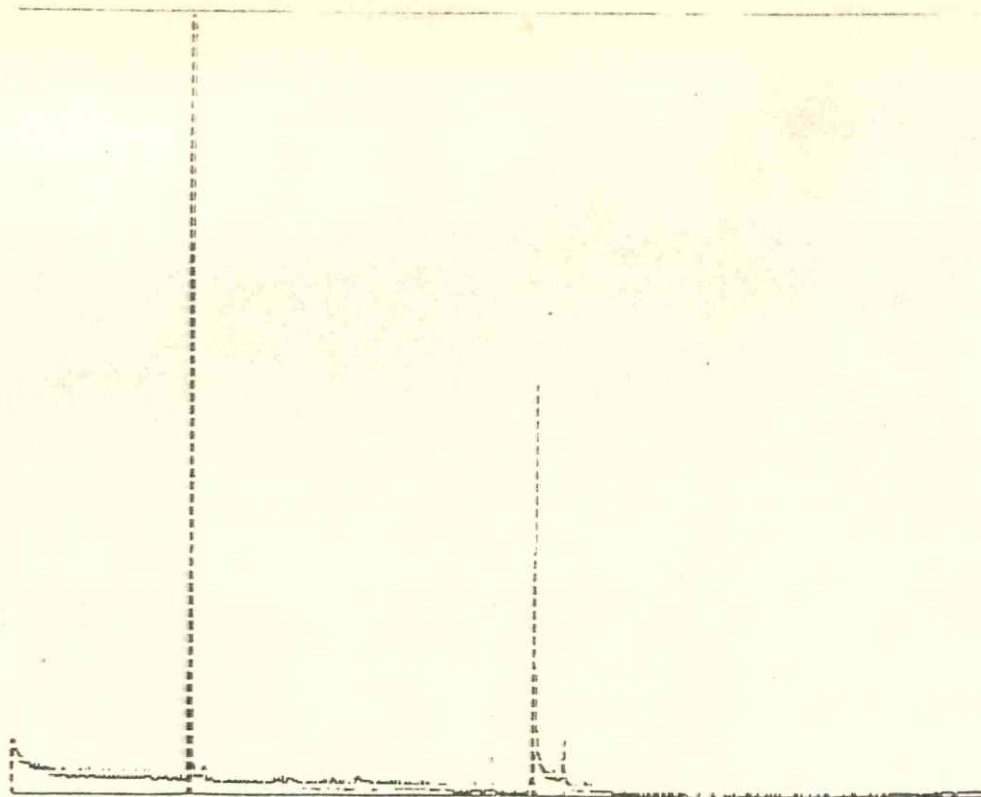


Fig. 18. Cromatografia gás-líquido da N-benzoil-piperidina acoplada a espectrometria de massa.

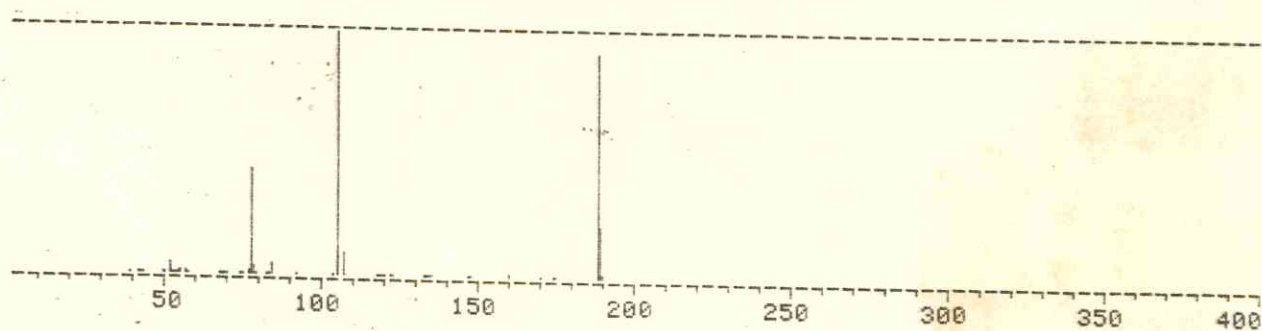


Fig. 19. Espectro de massa (70eV) da N-benzoil-piperidina



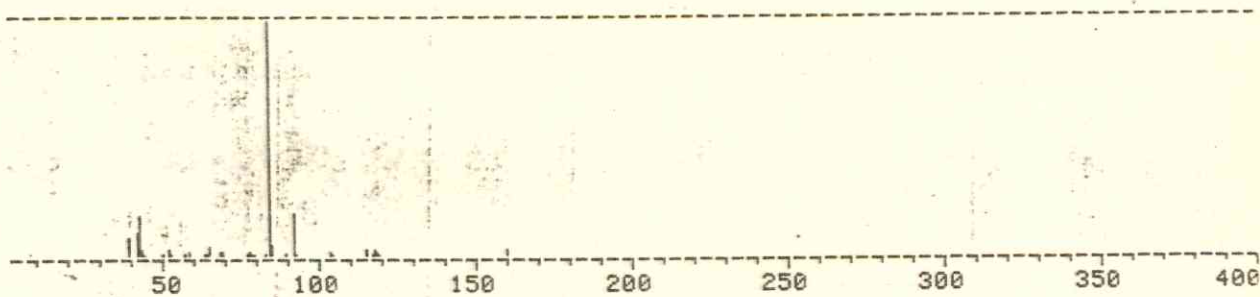


Fig. 20. Espectro de massa (70eV) da anfetamina de rivatizada com acetona.

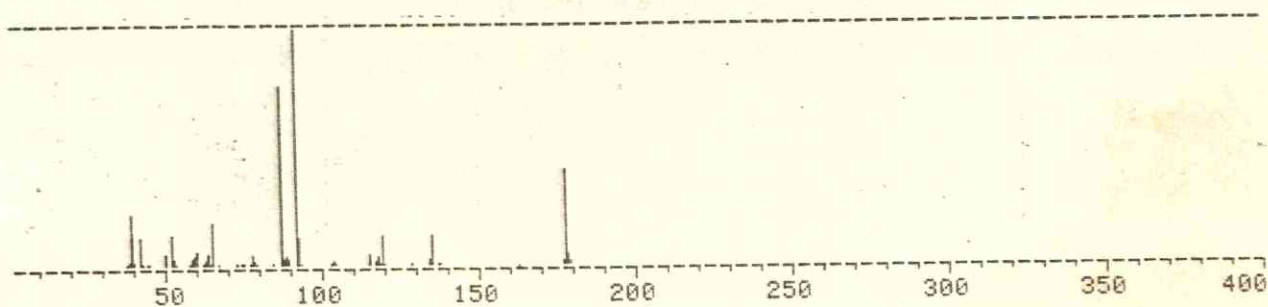
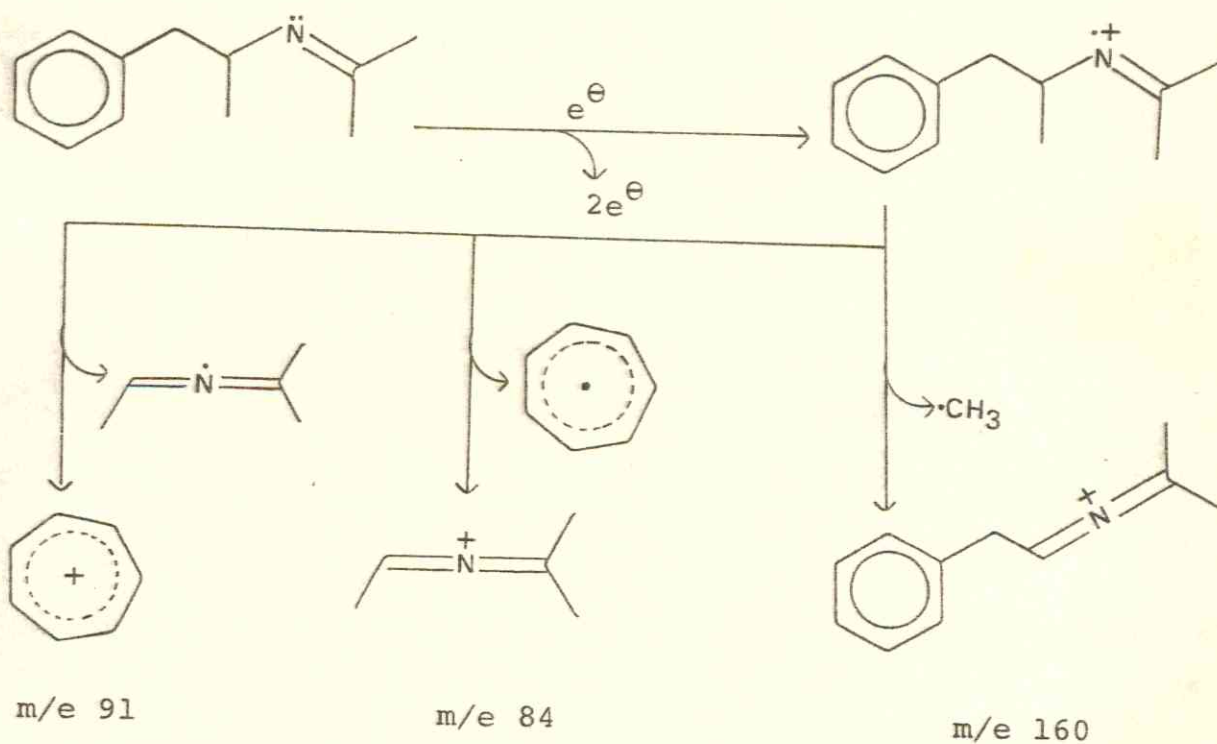
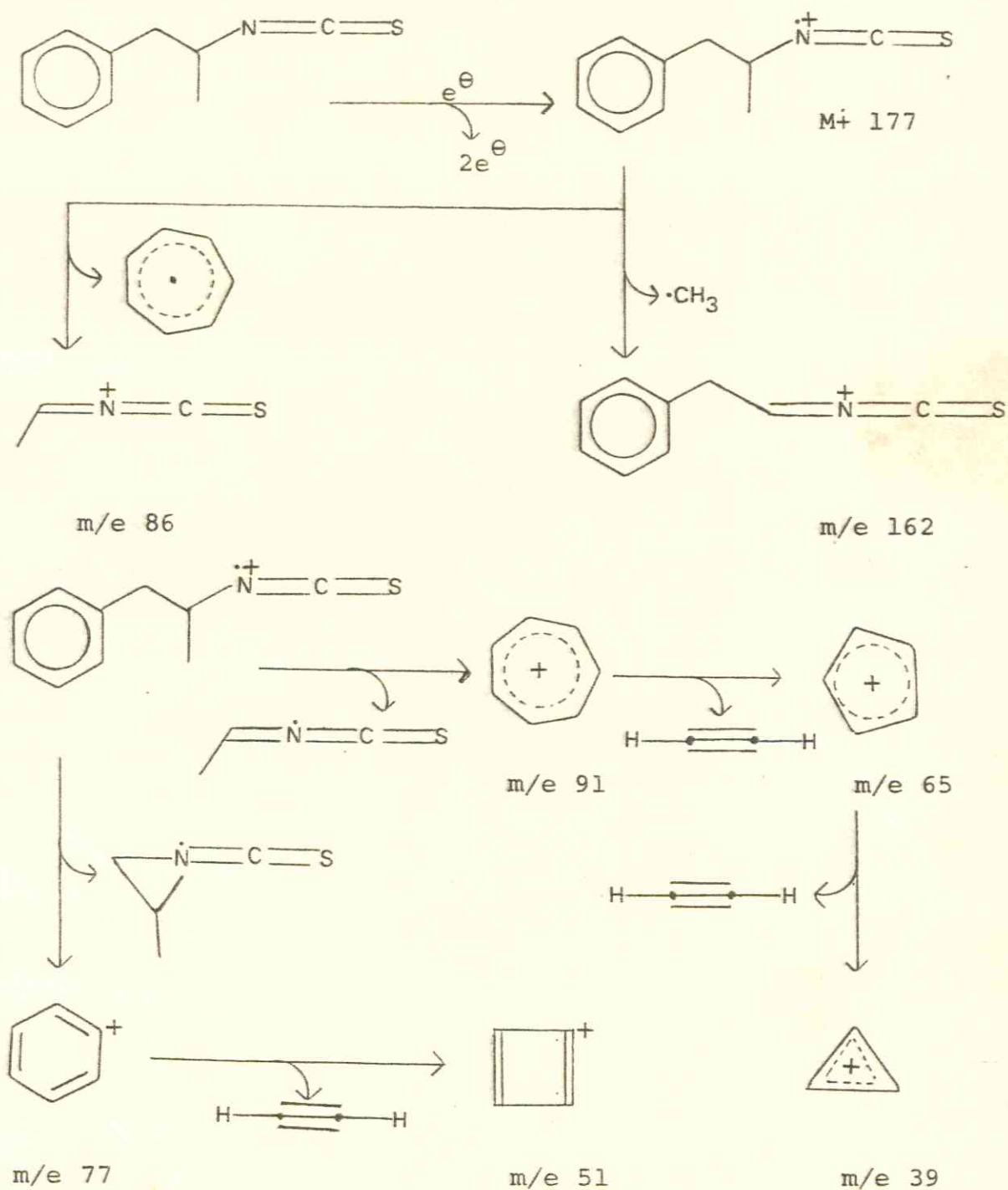


Fig. 21. Espectro de massa (70eV) de anfetamina derivatizada com  $CS_2$ .

Quadro 1. Principais fragmentos para o derivado da anfetamina com acetona no espectrômetro de massa.



Quadro 2. Principais fragmentos para o derivado da anfetamina com  $\text{CS}_2$  no espectrômetro de massa<sup>264</sup>.



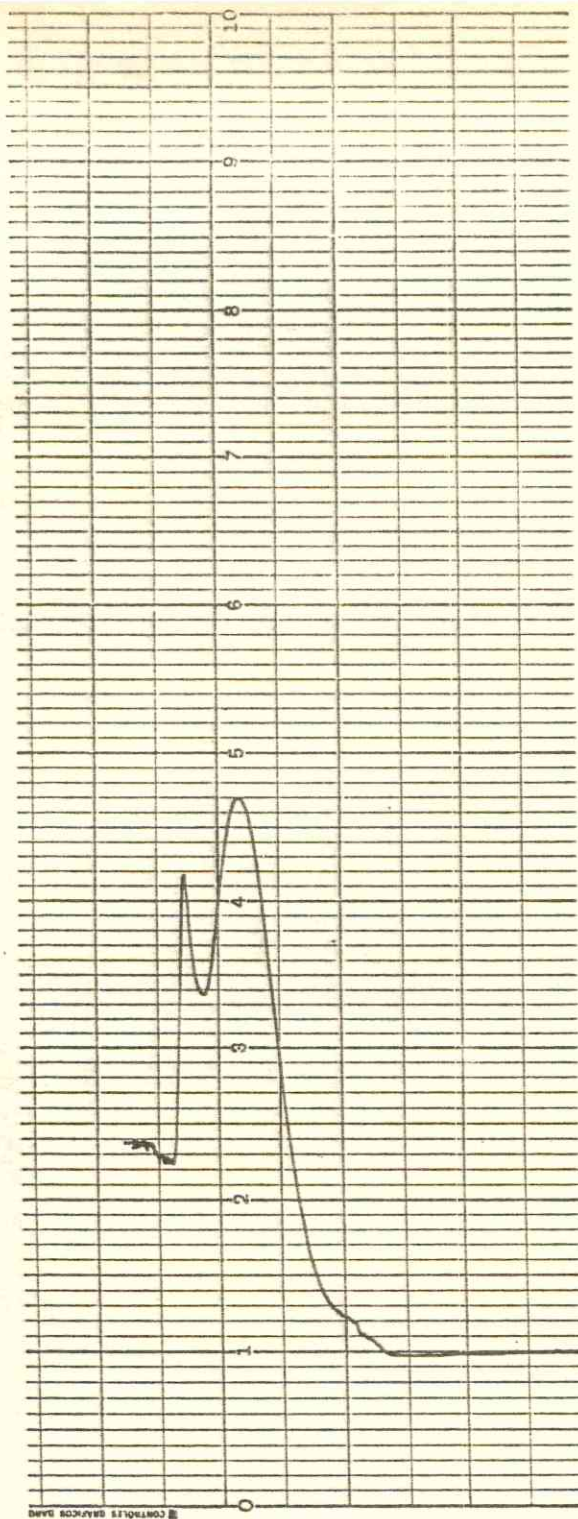


Fig. 22. Espectro no UV do ácido hipúrico.

Condições empregadas: concentração da solução: 100mg de ácido hipúrico/500ml de metanol; foi usado 0,5ml da solução + 3ml de metanol (diluição); solvente: metanol Merck, velocidade do papel: 2cm/min; velocidade em comprimento de onda: 50nm/min; comprimento de onda observado: 254 nm.



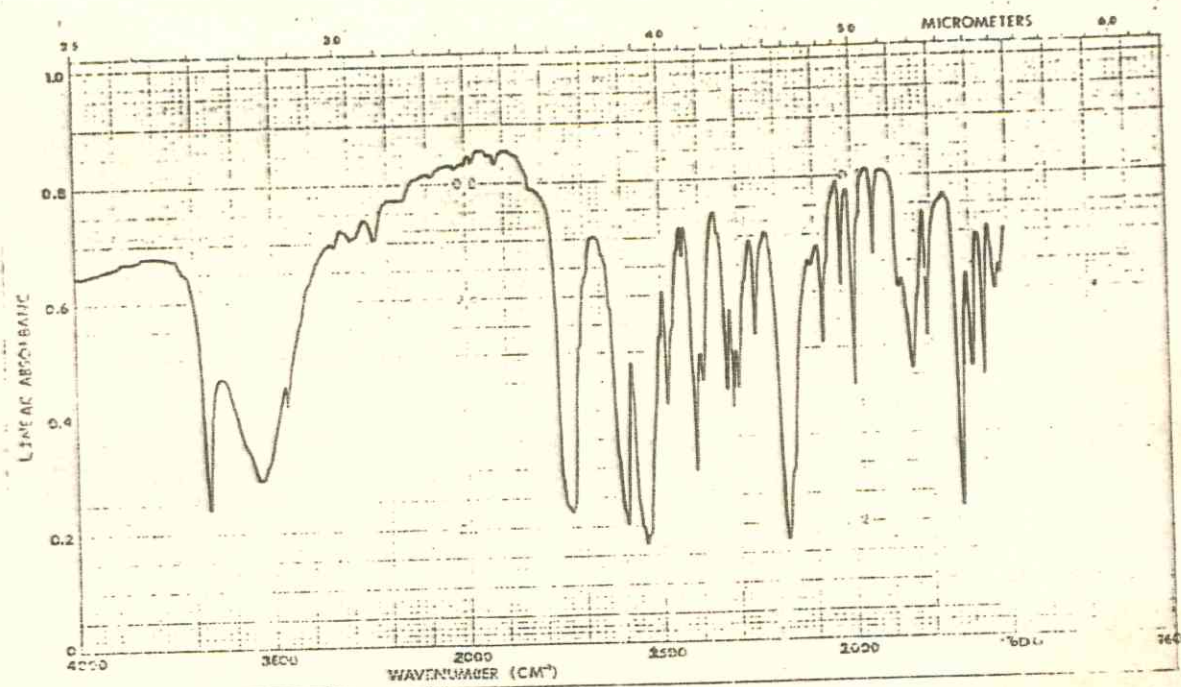


Fig. 23. Espectro no IV do ácido hipúrico.

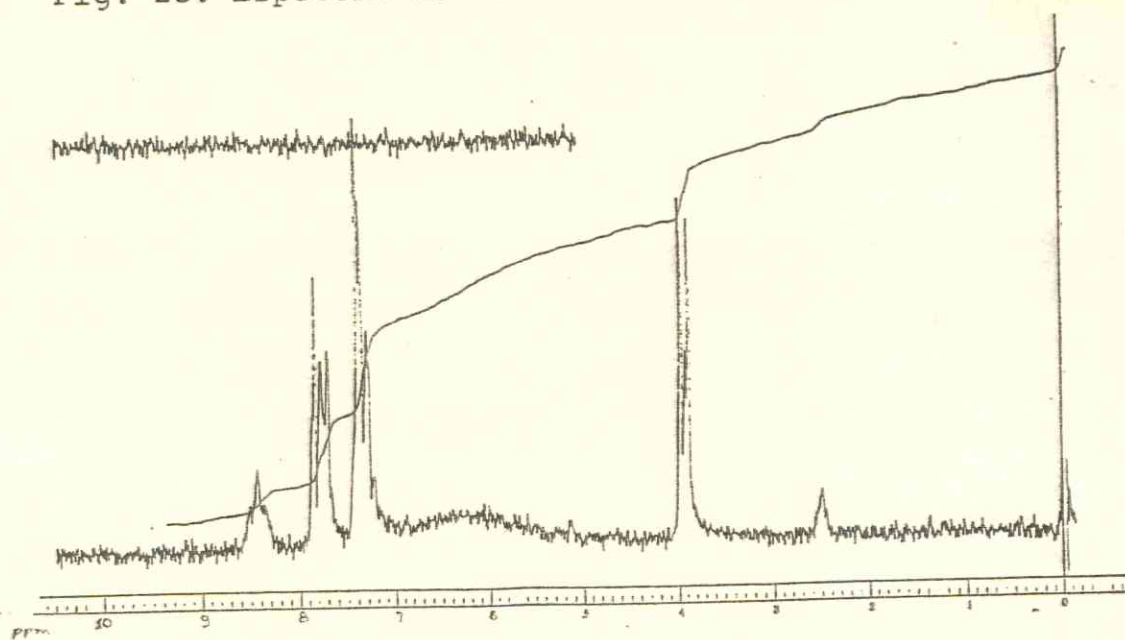


Fig. 24. Espectro de RMN<sup>1</sup>H do ácido hipúrico.

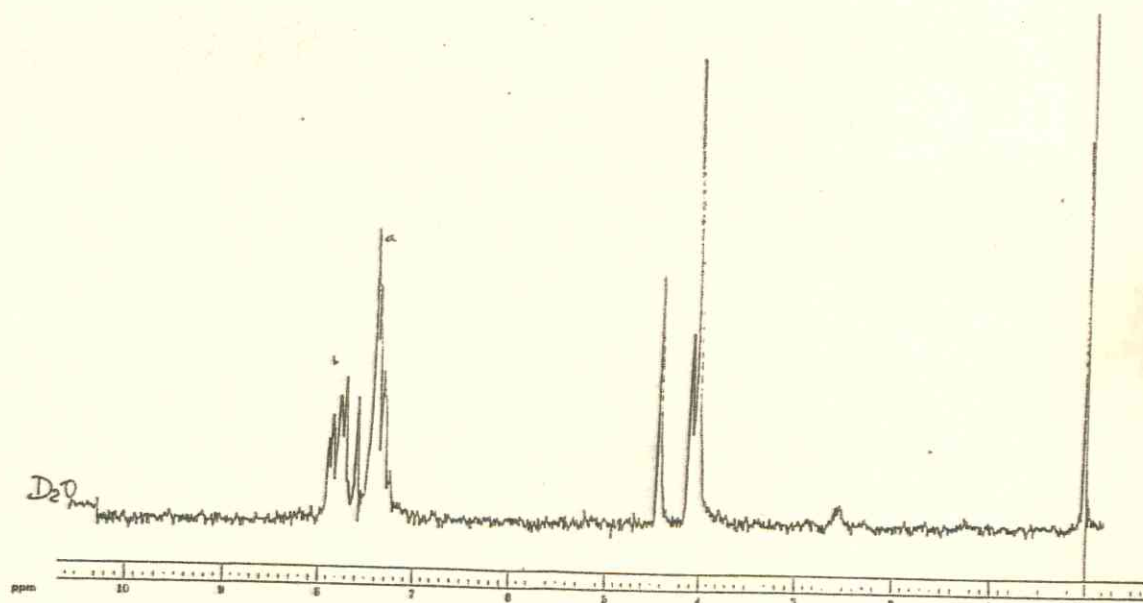


Fig. 25. Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  do ácido hipúrico (trocando com  $\text{D}_2\text{O}$ ).

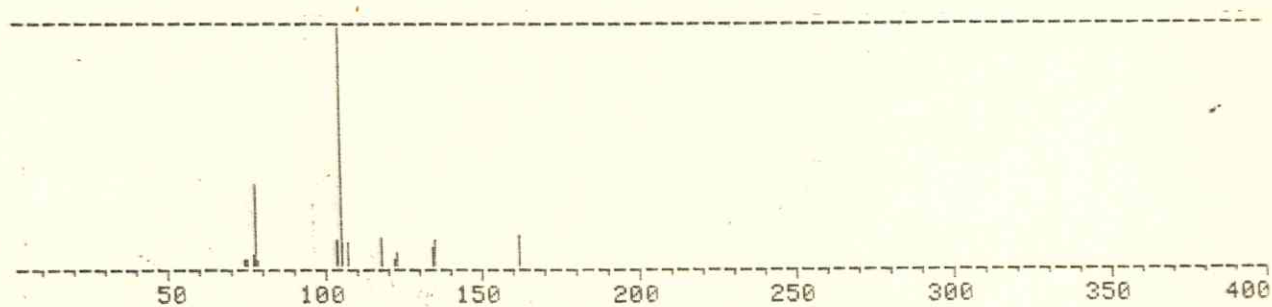


Fig. 26. Espectro de massa (70eV) do ácido hipúrico.

COLUNA: MicroPak MCH-5

5 $\mu$ m

AMOSTRA: ÁCIDO HIPÚRICO

ELUENTE: (H<sub>2</sub>O/MeOH) (50/50)

FLUXO : 0.6ml/Min.

VELOCIDADE DO PAPEL: 20cm/h

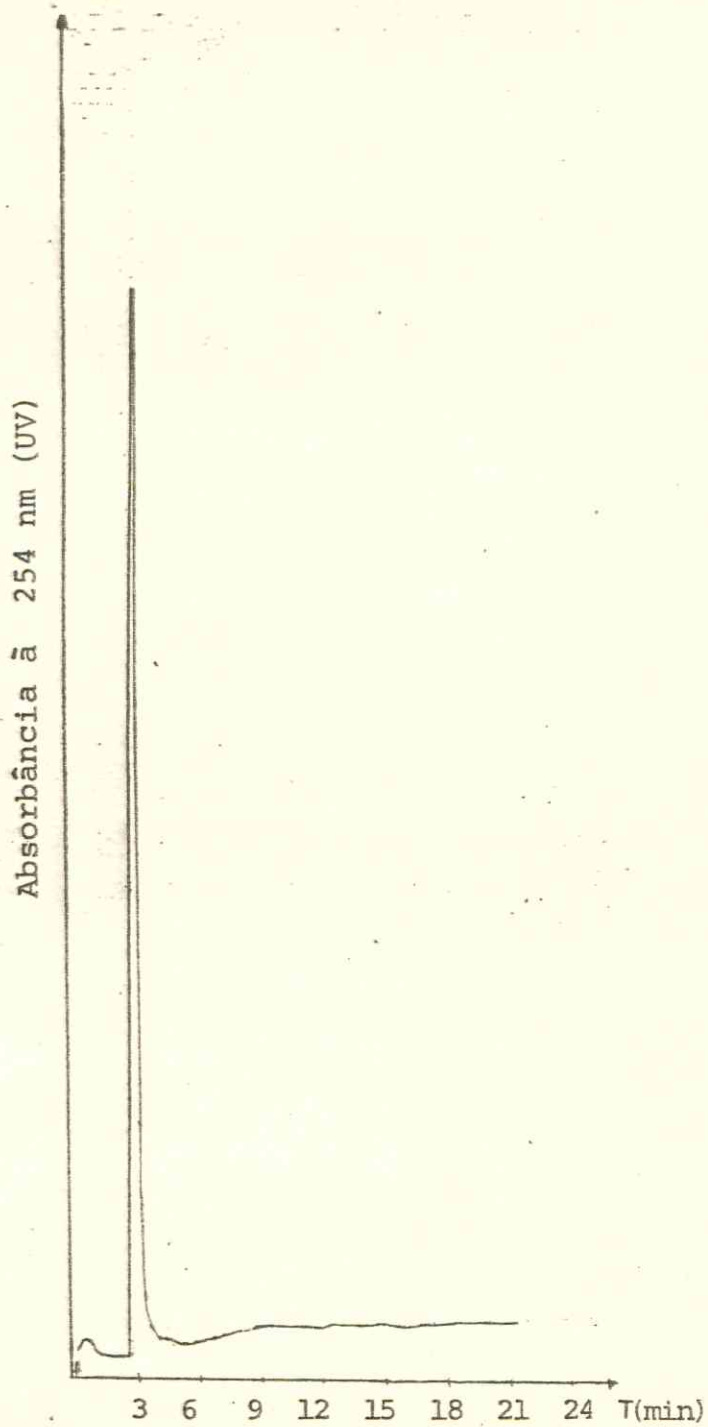


Fig. 27. CLAE do ácido hipúrico.

## D A D O S   D O   D E S C O N H E C I D O

## AMOSTRA N - 1

RF-PAPEL 44  
TR-CLAE 7.5  
SOLVENTE EM CROMATOGRÁFIA EM PAPEL RF2  
SOLVENTE EM CLAE F4  
COR DO SPOT EM PAPEL: AZV  
PICO BASE: 204  
FRAGMENTO 2 NO ESPECTRO DE MASSA: 117  
FRAGMENTO 3 NO ESPECTRO DE MASSA: 115  
FRAGMENTO 4 NO ESPECTRO DE MASSA: 77

## RESPOSTA DO COMPUTADOR

ENTRADA 56

GI = .8

NOME DA SUBSTÂNCIA: FENOBARBITAL  
PESO MOLECULAR: 232  
RF EM CROMATOGRÁFIA EM PAPEL: 44  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF2  
COR: AZV  
RF-CLAE : 7.05  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM: 204  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM: 117  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM: 115  
QUARTO PICO MAIS INTENSO: 103

Fig. 28. Resposta do computador para a substância-problema nº 1 após comparação com as entradas da biblioteca de padrões "Drogaev/Arg".



## D A D O S   D O   D E S C O N H E C I D O

## AMOSTRA N - 2

RF-PAPEL 92  
TR-CLAE 14.1  
SOLVENTE EM CROMATOGRÁFIA EM PAPEL RF1  
SOLVENTE EM CLAE F4  
COR DO SPOT EM PAPEL: BR  
PICO BASE: 75  
FRAGMENTO 2 NO ESPECTRO DE MASSA: 111  
FRAGMENTO 3 NO ESPECTRO DE MASSA: 138  
FRAGMENTO 4 NO ESPECTRO DE MASSA: 239

## RESPOSTA DO COMPUTADOR

ENTRADA 10

GI = .8

NOME DA SUBSTÂNCIA: LORAZEPAN  
PESO MOLECULAR: 321  
RF EM CROMATOGRÁFIA EM PAPEL: 92  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: BR  
RF-C L A E : 14.1  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM: 75  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM : 111  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM: 138  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM : 239

Fig. 29. Resposta do computador para a substância-problema nº 2, após comparação com as entradas da biblioteca de padrões "Drogaev/Arq".

## D A D O S   D O   D E S C O N H E C I D O

AMOSTRA N - 3

RF-PAPEL 95  
TR-CLAE 14.25  
SOLVENTE EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL RF1  
SOLVENTE EM CLAE F4  
COR DO SPOT EM PAPEL: RXC  
PICO BASE: 999  
FRAGMENTO 2 NO ESPECTRO DE MASSA 999  
FRAGMENTO 3 NO ESPECTRO DE MASSA : 999  
FRAGMENTO 4 NO ESPECTRO DE MASSA : 999

## RESPOSTA DO COMPUTADOR

ENTRADA 15

GI = .8

NOME DA SUBSTÂNCIA: PROPIFENAZONA  
PESO MOLECULAR : 230  
RF EM CROMATOGRAFIA EM PAPEL: 95  
SOLVENTE CROMAT. PAPEL RF1  
COR: RXC  
RF-C L A E : 14.55  
SOLVENTE CLAE F4  
PICO BASE EM: 999  
SEGUNDO PICO MAIS INTENSO EM: 999  
TERCEIRO PICO MAIS INTENSO EM: 999  
QUARTO PICO MAIS INTENSO EM: 999

Fig. 30. Resposta do computador para a substância-problema nº 3, após comparação com as entradas da biblioteca de padrões "Drogaev/Arq".

COLUNA: MicroPAK MCH-5 (30cmX4mm)

5 $\mu$ m

AMOSTRA: Urina suspeita de intoxicação  
por fenobarbital

ELUENTE: (H<sub>2</sub>O/MeOH) (40/60)

FLUXO: 0,6ml/min

VELOCIDADE DO PAPEL: 20 cm/h

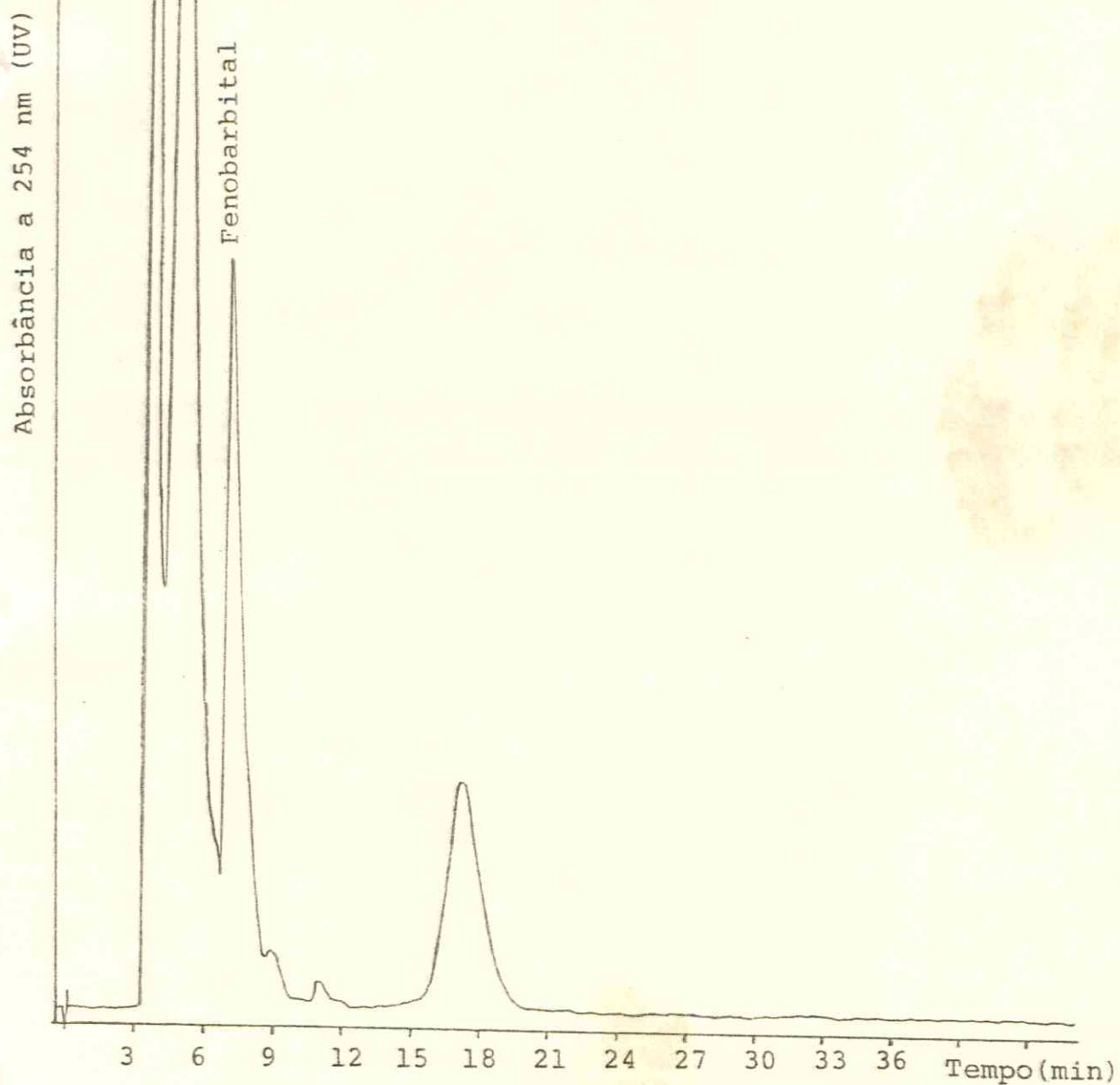


Fig. 31. Cromatografia líquida de alta eficiência de uma amostra de urina suspeita de intoxicação por fenobarbital.

COLUNA: MicroPAK MCH-5 (30cmX4mm)

5 $\mu$ m

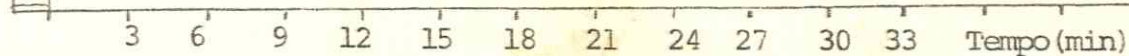
AMOSTRA: Urina normal (pH ácido)

ELUENTE: (H<sub>2</sub>O/MeOH) (40/60)

FLUXO: 0,6ml/min

VELOCIDADE DO PAPEL: 20cm/h

Absorbância à 254 nm (UV)



3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 Tempo (min)

Fig. 32. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do perfil cromatográfico de urina (pH ácido) considerada normal (branco).



COLUNA: MicroPAK MCH-5 (30cmX4mm)

5 $\mu$ m

AMOSTRA: Urina suspeita de intoxicação  
por lorazepan

ELUENTE: (H<sub>2</sub>O/MeOH) (40/60)

FLUXO: 0,6ml/min

VELOCIDADE DO PAPEL: 20 cm/h

Absorbância à 254 nm (UV)

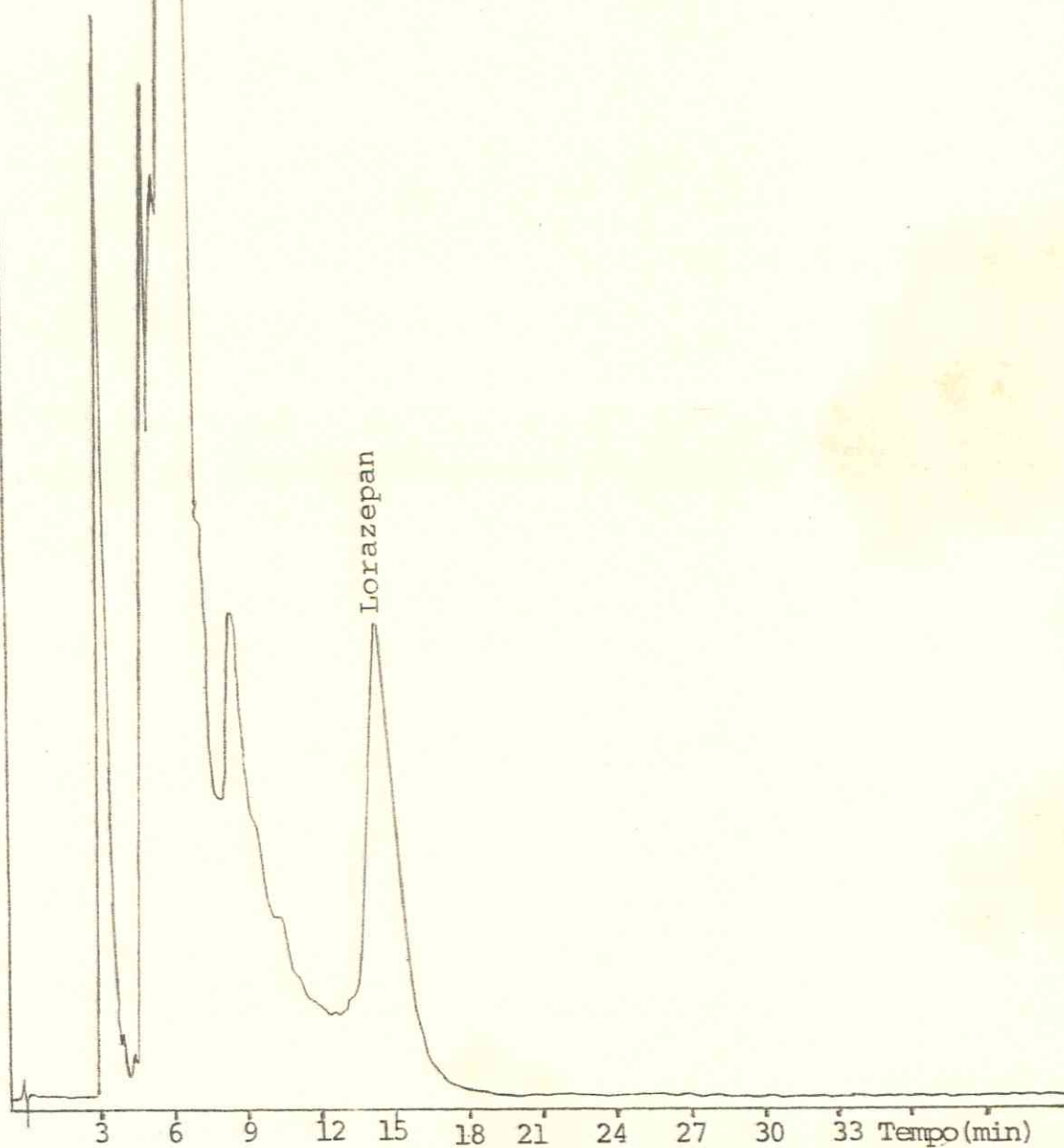


Fig. 33. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de uma amostra de urina suspeita de intoxicação por lorazepan.

COLUNA: MicroPAK MCH-5 (30cmX4mm)

5 $\mu$ m

AMOSTRA: Urina normal (pH alcalino)

ELUENTE: (H<sub>2</sub>O/MeOH) (40/60)

FLUXO: 0,6 ml/min

VELOCIDADE DO PAPEL: 20 cm/h

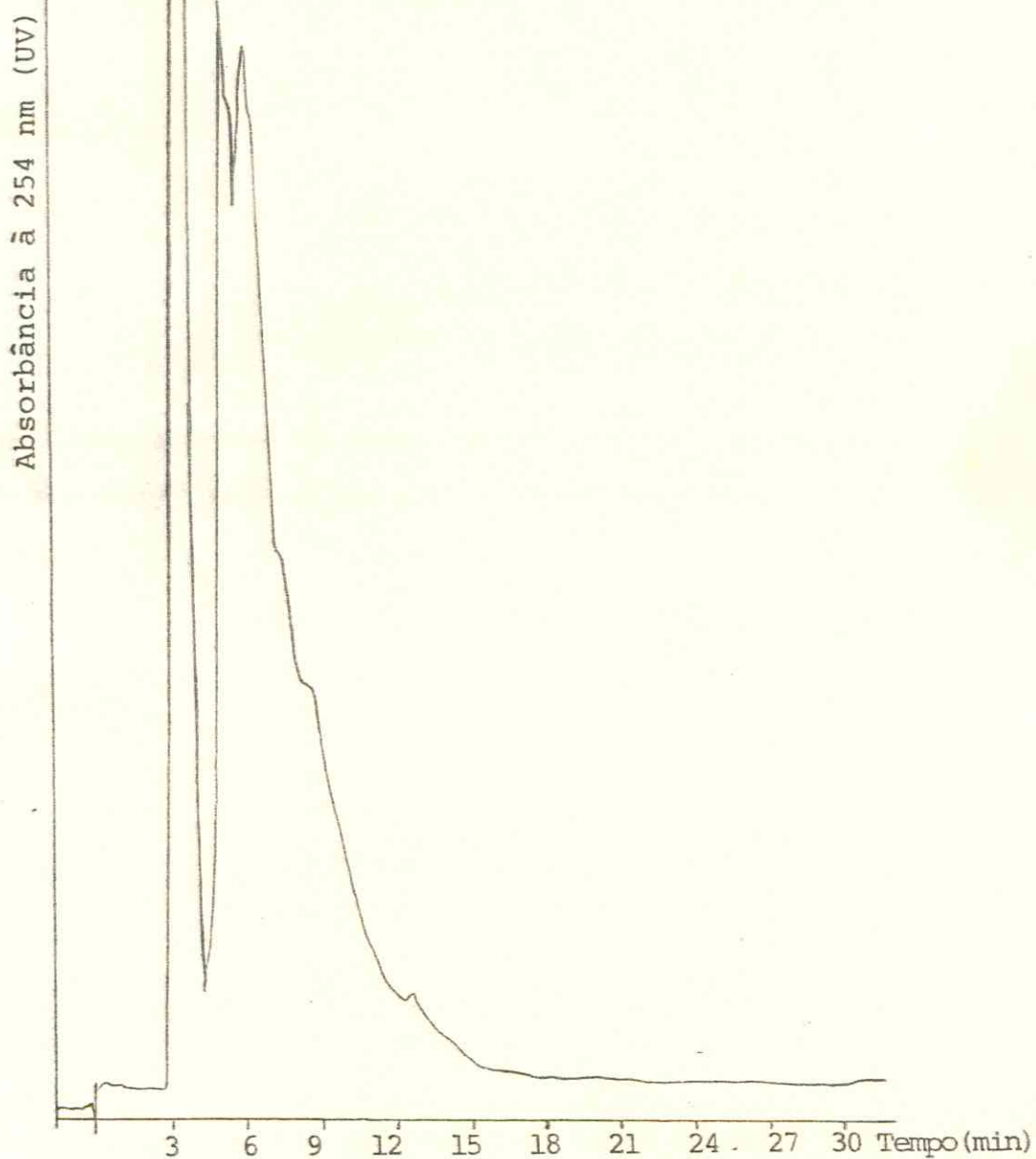


Fig. 34. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do perfil cromatográfico de urina (pH básico) considerado normal (branco).

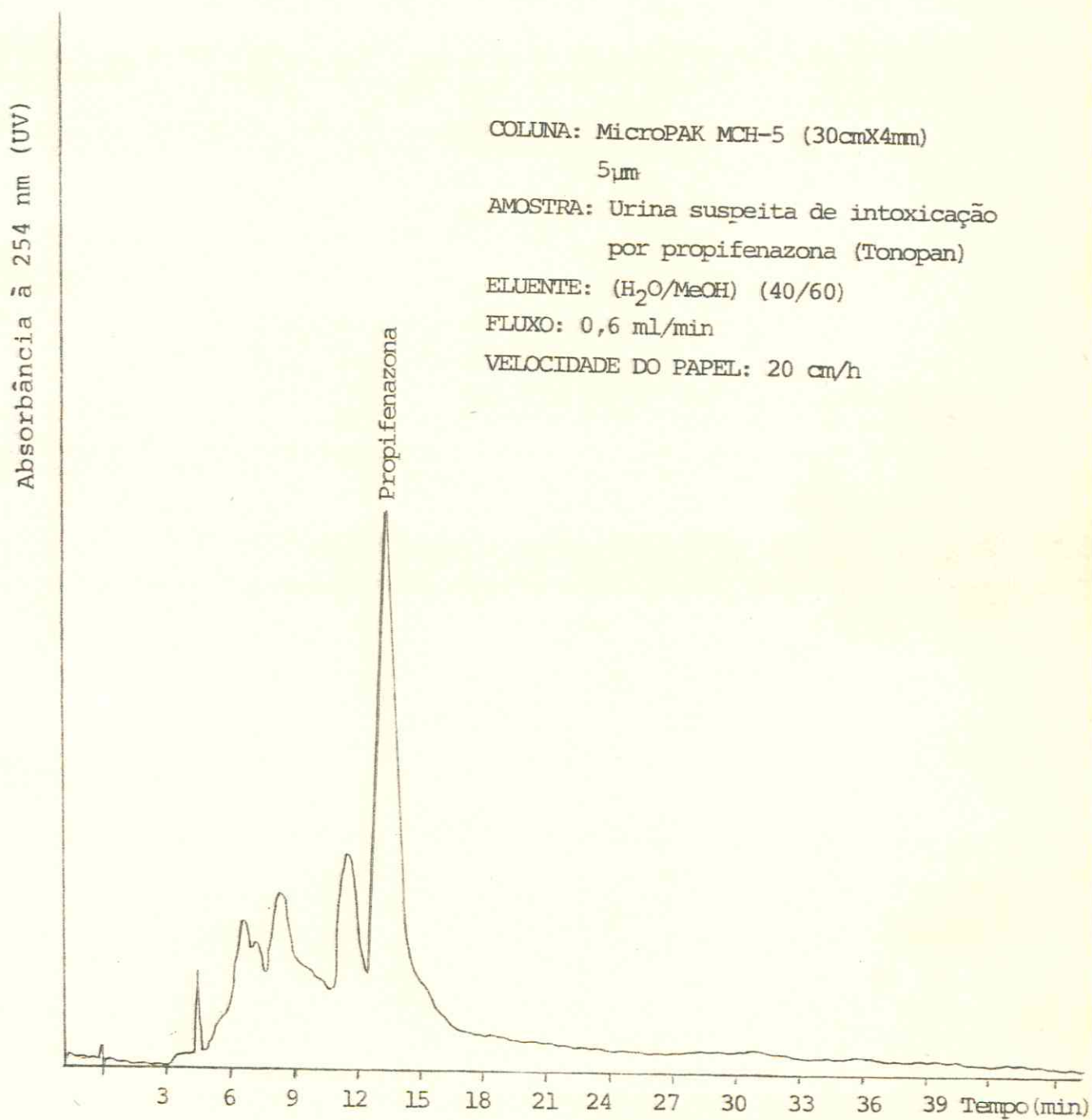


Fig. 35. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de uma amostra de urina suspeita de intoxicação por propifenazona (Tonopan).

## 7. TESTES BIOLÓGICOS EFETUADOS COM BENZAMIDAS

Os testes biológicos efetuados com benzamidas obtidas em nosso laboratório com a reação modificada de Schotten-Baumann descrita neste trabalho foram realizados pelos professores: Rita de Cássia S. C. B. Barbosa, Ricardo F. Maia, Edeltrudes de O. Lima (Lab. Téc. Farmacêutica da UFPb) e Astréa M. Giesbrecht (Instituto de Ciências Biomédicas-USP.).

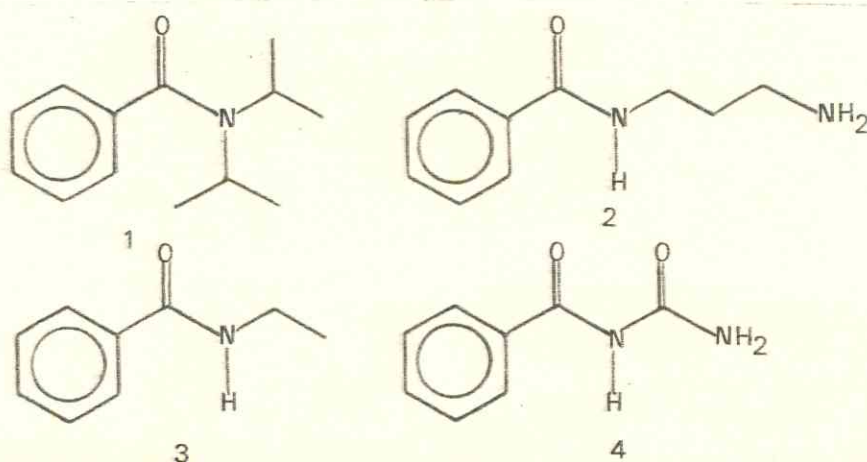
### 7.1. Avaliação da atividade antibiótica de benzamidas

A avaliação foi feita com os microorganismos em meios de cultura apropriados.

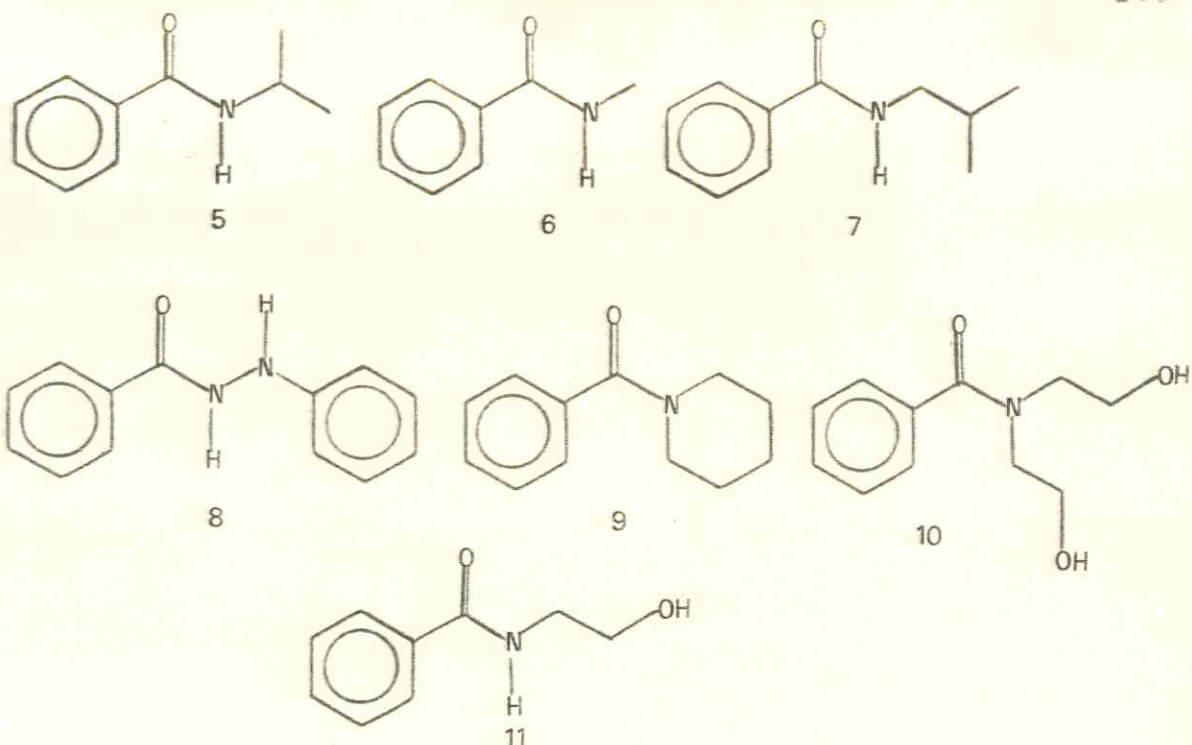
A atividade antibiótica das benzamidas referidas, foi testada em microorganismos.

As substâncias foram testadas em concentrações diversas, entre 1000 a 125µg/ml, solubilizadas em sulfóxido de dimetila (DM<sub>50</sub>), numa proporção que não interfere no desenvolvimento dos microorganismos.

Foram feitos testes nas onze benzamidas, derivadas da reação do cloreto de benzoíla com aminas alifáticas primárias e secundárias (cf. parte experimental, cap. 8, item 8.12), cujas estruturas são indicadas a seguir:







## 7.2. Microorganismos

Foram realizados testes com as bactérias, fungos e meios de cultura apropriados para o tipo de microorganismo em volvido.

Bactérias: Escherichia coli (ATCC-25922), Staphylococcus epidermis (ATCC-12228), Staphylococcus aureus (ATCC-6538).

Fungos leveduriformes: Candida albicans (ICB-11), Torulopsis glabrata (ICB-51), Cryptococcus neoformans (FCF-119).

Fungos filamentosos: Trichophyton rubrum (ICB-104), Microsporum gypseum (ICB-281).

Os meios utilizados foram ágar e caldo Sabouraud para os ensaios com fungos e ágar nutritivo para os ensaios com bactérias.

### Método utilizado para os ensaios com bactérias e fungos leveduriformes.

Para os ensaios com bactérias e fungos leveduriformes utilizou-se o método de difusão no ágar pelo processo cavidade-placa. Foi inoculado 1 ml da suspensão do microorganismo (padronizada pelo tubo nº 1 da escala Mac Farland) para 20 ml de meio. As amostras foram introduzidas nas cavidades das placas, sendo incubadas a 37°C. As leituras foram feitas após 24/48 horas de incubação.

### Método utilizado para os ensaios com fungos filamentosos.

Para os fungos filamentosos, as amostras foram solubilizadas em um pequeno volume de sulfoxido de dimetila, acrescentando-se meio líquido caldo Sabouraud para obter-se as concentrações desejadas de 500 até 125µg/ml. As leituras dos ensaios foram feitas após a incubação de 14 dias a 25°C. Foram realizados controles dos microorganismos no meio de cultura com e sem solvente para verificar uma possível interferência no desenvolvimento destes.

### 7.3. Resultados da avaliação da atividade biológica das benzamidas

Os resultados da avaliação da atividade das benzamidas sobre bactérias e leveduras, bem como os resultados da

avaliação da atividade das mesmas sobre fungos filamentosos se encontram condensados nas tabelas IX e X.

Conforme os resultados apresentados na tabela IX, pode-se ver claramente que nenhuma das benzamidas testadas sobre bactérias e leveduras se mostrou ativa.

Por outro lado, os resultados da avaliação da atividade das benzamidas sobre fungos filamentosos (tabela X) foram promissores para alguns deles, como por exemplo, a N,N-diisopropil-benzamida(1) que apresentou uma inibição total sobre M. gypseum e T. rubrum, na concentração de 500µg/ml, e inibição razoável sobre T. rubrum na concentração de 250 µg/ml.

A N-isobutil-benzamida(7) e a N-piperidino-benzamida(9) apresentaram inibição razoável sobre M. gypseum e inibição total sobre T. rubrum, na concentração de 500µg/ml. Quando testadas na concentração de 225µg/ml, estas substâncias apresentaram sobre T. rubrum, inibição regular. A N-benzoil-urêia(4) apresentou inibição regular sobre M. gypseum e inibição total sobre T. rubrum, na concentração 500µg/ml. Ainda sobre T. rubrum, na mesma concentração, a N-etil-benzamida (3) apresentou inibição regular.

Estes exemplos sugerem e justificam a continuação de estudos relacionados à preparação de outras amidas N-alquila e N-arila substituídas, para serem submetidas a ensaios biológicos; dos quais poderão advir resultados mais promissores relacionados a utilização destes compostos.



Tabela IX. Resultados da Avaliação da Atividade das benzamidas sobre Bactérias e Leveduras

Subs. na concentração de 1000µg/ml	MICROORGANISMOS					
	<u>E.coli</u>	<u>S.epidermidis</u>	<u>S.aureus</u>	<u>C.albicans</u>	<u>T.glabrata</u>	<u>C.neoformans</u>
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
Controle do DM <sub>50</sub> 50%	-	-	-	-	-	-
Controle do microorganismo	C.I.	C.I.	C.I.	C.I.	C.I.	C.I.

- : negativo (não há inibição)

+ : positivo (há inibição)

C.I.: crescimento intenso



Tabela X. Resultados da Avaliação da Atividade das benzamidas sobre fungos filamentosos.

Subs. em µg/ml	Microorganismos		
	M. gypseum	T. rubrum	
1	500	++++	++++
	250	0	+++
	125	0	0
2	500	0	0
	250	0	0
	125	0	0
3	500	0	++
	225	0	0
	125	0	0
4	500	++	++++
	225	0	0
	125	0	0
5	500	0	0
	250	0	0
	125	0	0
6	500	0	0
	250	0	0
	125	0	0
7	500	+++	++++
	225	0	++
	125	0	0
8	500	0	0
	250	0	0
	125	0	0
9	500	+++	++++
	250	0	++
	125	0	0
10	500	0	0
	250	0	0
	125	0	0
11	500	0	0
	250	0	0
	125	0	0
Controle c/ o solvente (DM <sub>50</sub> )	1a. diluição	0	0
	2a. diluição	0	0
	3a. diluição	0	0
Controle do microorganismo		0	0

++++: inibição total  
 +++: inibição razoável  
 ++: inibição regular

+ : valor discutido  
 0 : crescimento intenso do fungo

## 8. PARTE EXPERIMENTAL

### 8.1. Soluções padrões dos fármacos

Os padrões foram obtidos através dos fármacos, referidos no capítulo 3, disponíveis no comércio, os quais foram submetidos à extração líquido-líquido (cf. Fig. 36, p. 156), visando a separação do princípio ativo de cada fármaco, o qual foi posteriormente purificado por cromatografia de partição em papel (CP) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), e confirmação de sua estrutura por análise dos respectivos espectros de massa. Os resultados foram codificados para alimentação em programas para computação.

### 8.2. Aparelhos e equipamentos acessórios

- Cromatógrafo líquido VARIAN modelo 5000 (VARIAN, Palo Alto, Cal., U.S.A.) equipado com detector UV 254 nm com uma coluna de fase reversa: MicroPAK MCH-5 (300 x 4,6 mm I.D.). foi usado para a separação cromatográfica e detecção dos produtos.
- Espectrômetro CGL-EM modelo HP 5995A HEWLETT PACKARD, coluna sp-2100 de sílica fundida, diâmetro interno 0,5 mm, comprimento 50m, gás de arraste hélio com vazão de 1 ml/min, temperatura de programação: 50-250°C com variações de 4°/min.

- Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear de proton VARIAN mod. EM-360 de 60MHz medindo-se os deslocamentos químicos em relação ao tetrametil-silano (TMS) utilizando-se como solventes  $\text{CDCl}_3$  e  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ .
- Espectrômetro Infravermelho PERKIN-ELMER mod. 720 e/ou 1320, utilizando-se pastilhas de KBr para sólidos e filmes para substâncias líquidas.
- Espectrômetro ultravioleta e visível (UV-VIS) VARIAN UV Vis. mod. 634-S.
- Lâmpada UV (UVSL-25 MINERALIGHT) de dois comprimentos de onda (254 e 366 nm).
- Colunas "Extrelut" com Kieselguhr fabricadas por E. Merck Co.
- Os pontos de fusão foram determinados em aparelhos de microdeterminação marca METTLER mod. FP.5
- Processamento de dados: CP-500 de fabricação da PROLÓGICA com placa CPM (Microsol) e placa para alta resolução gráfica (PSI-GRAF).

### 8.3. Adsorventes, solventes e sistemas de solventes

Kieselguhr

Éter etílico

Clorofórmio/isopropanol (85/15)

Papel Whatman 3<sup>m</sup>/<sub>m</sub>

n-butanol/ác. fórmico/água (12/1/7)<sup>271</sup>

Clorofórmio/isopropanol/hidróxido de amônio 25% (45/45/10)<sup>272</sup>

n-butanol/ác. fórmico/água (20/1/2)<sup>277</sup>



Octadecilsilano

Solventes (cf. eluentes utilizados em CLAE, p.101.

#### 8.4. Agentes cromogênicos

Reativo de Dragendorff modificado segundo "MUNIER"<sup>1</sup>

Nitrato mercurioso a 2% em etanol

Vapores de amônia

Verde de bromocresol

#### 8.5. Método de extração

Foi utilizada uma coluna preparada "Extrelut"<sup>273,275</sup> que fundamenta seu funcionamento em um princípio de extração líquido-líquido. Sobre o material de suporte se aplicam 20 ml da solução aquosa, que se fixa como fase estacionária sobre a matriz do suporte, quimicamente inerte. Em continuação, é eluída com solventes orgânicos imiscíveis em água. A fase aquosa se mantém fixa no suporte e todas as substâncias lipofílicas são eluídas da fase aquosa para a fase orgânica.

O pH da solução submetida à extração pode variar entre pH 1 a pH 13, podendo-se, segundo a conveniência, alterar o pH na própria coluna. Desta maneira se conta com a possibilidade de eluir as diferentes substâncias, no pH óptimo de cada uma delas, e obter assim a separação de compostos ácidos, neutros e básicos. Praticamente se pode adaptar todas as técnicas convencionais de extração às condições da coluna.

Adicionam-se 20 ml de uma amostra aquosa sobre o



material granulado que atua como suporte. A amostra se acomoda na matriz porosa por uns 10 a 15 minutos.

Em seguida, se adicionam 40 ml do solvente orgânico e em um intervalo de 5 a 20 minutos, as substâncias lipofílicas contidas na fase estacionária são extraídas.

O volume morto da coluna corresponde a aproximadamente 15 ml e, por esta razão, obtêm-se em torno de 25 ml do eluato (fase orgânica); a fase aquosa se mantém na coluna e o eluato fica livre de emulsões e se concentra diretamente, sem proceder a operações prévias de secagem.

As vantagens do uso da coluna "Extrelut" são: não forma emulsões (o que ocasiona consideráveis perdas da substância de ensaio); há economia de solvente, material e tempo, tem-se maiores quotas de recuperação, melhor sensibilidade analítica e maior pureza dos eluatos.

#### **8.6. Marcha analítica para separação de fármacos e toxinas na urina.**

Para separação das substâncias eliminadas, submete-se a urina, convencionalmente, a uma extração líquido-líquido, com éter em meio ácido, seguida de separação da fase aquosa, alcalinização e nova extração. A extração da urina acidulada é conseguida com a eluição na coluna a pH 2,0. Ao finalizar a eluição ácida, alcaliniza-se a urina situada sobre o material de suporte mediante corrente com ar saturado de amônia<sup>276</sup> e em continuação, se elui a coluna com uma mistura de diclorometano/isopropanol (85/15) para fazer a extra

ção de substâncias alcalinas. O roteiro deste método é o seguinte:

- tratam-se 20 ml da urina com aproximadamente 0,5 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ .
- fixa-se o pH 2,0 com HCl 25% e adiciona-se na coluna. A eluição das substâncias ácidas e neutras se realiza com 40 ml do éter etílico.
- finalizada a eluição ácida, tem-se que eliminar a quantidade principal do eluente restante mediante a aplicação de um vácuo fraco na coluna. Em seguida, se aspira, através da coluna, ar saturado com amoníaco até que a urina que se encontra na coluna, tenha passado completamente de pH ácido a pH alcalino (pH 10,0 a pH 10,5).
- segue-se eluindo a coluna com 40 ml de diclorometano/isopropanol (85/15). Neste eluato se encontram os compostos básicos.

#### 8.7. Método de análise

O material a ser analisado, fármaco ou preparação fisiológica é inicialmente submetido a um processo de extração líquido-líquido, usando uma coluna preparada de seringas plásticas de 50 ml, empacotadas com 70 ml de Kieselguhr (Extrelut, E. Merck, Darmstard) como suporte da fase estacionária e uma mistura de solventes orgânicos imiscíveis com a água, como fase móvel, de acordo com a figura 36. O resíduo obtido é submetido posteriormente a diferentes tipos de cromatografia.

Uma alíquota dos resíduos acima obtidos é analisada, inicialmente, por cromatografia de partição em papel (CP) tendo como eluentes: (n-butanol/ác. fórmico/água) (12:1:7) e clorofórmio/isopropanol/hidróxido de amônio 25%) (45:45:10), sendo depois submetidos à vaporização com reagentes cromogênicos tais como: reativo de Dragendorff modificado segundo "MUNIER" e nitrato mercurioso a 2% em etanol e em seguida submetido a vapores de amônia, respectivamente. Os resultados obtidos neste procedimento, tais como, Rf e coloração da mancha são codificados e armazenados em um programa para computador.

Em seguida, uma outra alíquota dos referidos resíduos é submetida à análise por CLAE. Diferentes sistemas de solventes para as substâncias de uma mesma classe foram testados e os resultados foram também codificados para alimentação em programas para computação.

A cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa foi utilizada com sucesso a fim de identificar o princípio ativo do fármaco em análise. Como nos outros casos, os resultados obtidos foram codificados e computarizados.

#### 8.8. Fase preliminar de triagem (CP).

Obtidos os resíduos com as substâncias ácidas e neutras (A) e com as substâncias básicas (B) (cf. Fig. 36, p. 156) estes foram retomados com 1 ml de metanol e cromatografados em papel Whatmann  $3\frac{m}{m}$  nos sistemas apropriados, isto é:



- as substâncias ácidas (barbitúricos e compostos de estruturas semelhantes) foram cromatografadas com o seguinte sistema de solvente: (clorofórmio/isopropanol/hidróxido de amônio 25%) (45/45/10) e depois de secas, foram observadas a luz UV(254 nm) e reveladas com nitrato mercurioso a 2% em etanol, seco a 110°C e submetido a vapores de amônia<sup>266</sup>. Observa-se uma coloração branca para a mancha correspondente a droga ácida, e coloração marron para o fundo do papel.
- as substâncias básicas foram cromatografadas com o sistema de solvente: (n-butanol 98%/ácido fórmico/água) (12/1/7) e estas depois de secas, foram também observadas à luz UV (254 nm) e submetidas à coloração com reativo de Draeger dorff modificado segundo "MUNIER".

Nesta fase de triagem obtém-se o valor de Rf correspondente a cada substância, cor da mancha em luz UV (254 nm) e cor das manchas reveladas com os reagentes cromogênicos acima mencionados.

## 8.9. Fase posterior de purificação e confirmação

### 8.9.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Em função do resultado obtido na fase preliminar, uma alíquota dos resíduos obtidos (A e B) (cf. Fig.36,p.156) foi submetida à análise por CLAE, utilizando-se condições padronizadas de coluna, eluente, fluxo e tipo de detector, adequados à droga sob análise, para a padronização e determinação do tempo de retenção ( $T_R$ ) de cada substância.



A água utilizada em CLAE foi bidestilada e desgaseificada. A desgaseificação de um solvente ou mistura de solventes é sempre indispensável.

#### 8.9.2. Cromatografia gás-líquido acoplada à espectrometria de massa (CGL-EM).

Os constituintes, previamente analisados, foram submetidos a CGL-EM, com o objetivo de confirmar suas estruturas.

#### 8.10. Aplicação da marcha analítica proposta para controle dos fármacos estudados em amostras de urina selecionadas para o trabalho.

Grupo 1 - indivíduos não medicados

As amostras foram submetidas à marcha analítica proposta, cujo esquema está resumido na Fig.36, p. 156.

Grupo 2 - indivíduos medicados ou drogados

As amostras foram extraídas e submetidas à fase de triagem. Estas amostras foram posteriormente analisadas com vistas à identificação dos fármacos possivelmente presentes nas amostras de urina.

### 8.11. Derivatização da anfetamina com $CS_2$ (241).

Anfetamina (1 mg) foi dissolvida em 10  $\mu$ l de éter etílico e 10  $\mu$ l de  $CS_2$  (agente derivatizante) seguido de adição de 1 gota de hidróxido de amônio 25%. A reação foi realizada em ampola selada, a 60°C, durante 10 minutos. Ao término da reação, 3  $\mu$ l da mistura de reação foram submetidos a CGL-EM.

#### 8.11.1. Derivatização da anfetamina em urina com $CS_2$

Em 20 ml de urina foi adicionado 1 mg da anfetamina e alcalinização com hidróxido de amônio 25% a pH 12,0. A urina assim preparada foi submetida à extração com éter etílico (40 ml) em coluna "Extrelut". O extrato etéreo foi reduzido a 20  $\mu$ l, em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, a 35°C. A 10  $\mu$ l do extrato assim obtido foi adicionado 10  $\mu$ l de  $CS_2$ . A reação foi realizada em ampola selada, a 60°C, durante 10 minutos. Ao término da reação, 3  $\mu$ l da mistura reacional foi submetidos a CGL-EM.

#### 8.11.2. Derivatização da anfetamina em urina, com acetona

A técnica utilizada para a derivatização da anfetamina foi a mesma descrita no sub-item 8.11.1, salvo a substituição de  $CS_2$  por acetona.

## 8.12. Derivatização de aminas alifáticas com cloreto de benzoíla

### 8.12.1. Preparação das amostras padrões

Soluções padrões foram preparadas pela mistura da amina livre (1 mol) com uma solução saturada de bicarbonato de sódio (ca. 5 moles) seguido da adição, gôta a gôta, de cloreto de benzoíla (1,1 mol) a temperatura ambiente e sob agitação magnética durante 4 horas. A amida correspondente foi extraída com clorofórmio, secada com sulfato de sódio e evaporada.

### 8.12.2. Procedimento de derivatização

O procedimento geral para a derivatização foi o seguinte: alíquotas de aminas (5-10  $\mu$ l) foram misturadas com uma solução saturada de bicarbonato de sódio (50  $\mu$ l), seguida da adição de cloreto de benzoíla (5-10  $\mu$ l) e a mistura reacional submetida a agitação magnética, durante 4 horas. A benzoilação foi interrompida pela adição de água (0,4 ml) e a amida extraída com clorofórmio (3x0,4 ml). Depois de lavada a fase clorofórmica com água (2x0,5 ml), o extrato foi secado (sulfato de sódio), filtrado, concentrado e a amostra submetida a análise.

### 8.12.3. Separação e quantificação por CLAE

Amostras derivatizadas em solução de metanol, livre



de partículas, foram injetadas (10 µl) no sistema cromatográfico com uma seringa de pressão. A coluna MicroPAK MCH-5 estava a temperatura ambiente. O eluente consistindo de água: metanol (50/50) foi bombeado (0,6 ml/min), isocriticamente. Os picos foram monitorizados a 254 nm.

As alturas dos picos de amostras desconhecidas foram comparadas quantitativamente com os das amostras padrões, tendo o mesmo tempo de retenção. Além disso, cada pico foi coletado e submetido a análise por CGL-EM.

### 8.13. Síntese do ácido hipúrico

Ácido hipúrico foi preparado a partir da glicina, pelo procedimento descrito no item 8.12.1., exceto que, depois de completa a reação, a mistura reacional foi interrompida com ácido clorídrico e o precipitado foi cristalizado em água.

### 8.14. Processamento de dados

Os dados foram processados em um microcomputador CP-500 de fabricação da PROLÓGICA com placa CPM (Microssol) e placa para alta resolução gráfica (PSI-GRAF).

Foram desenvolvidos programas e arquivos aleatórios em BASIC para o processamento dos dados gravados em discos flexíveis.



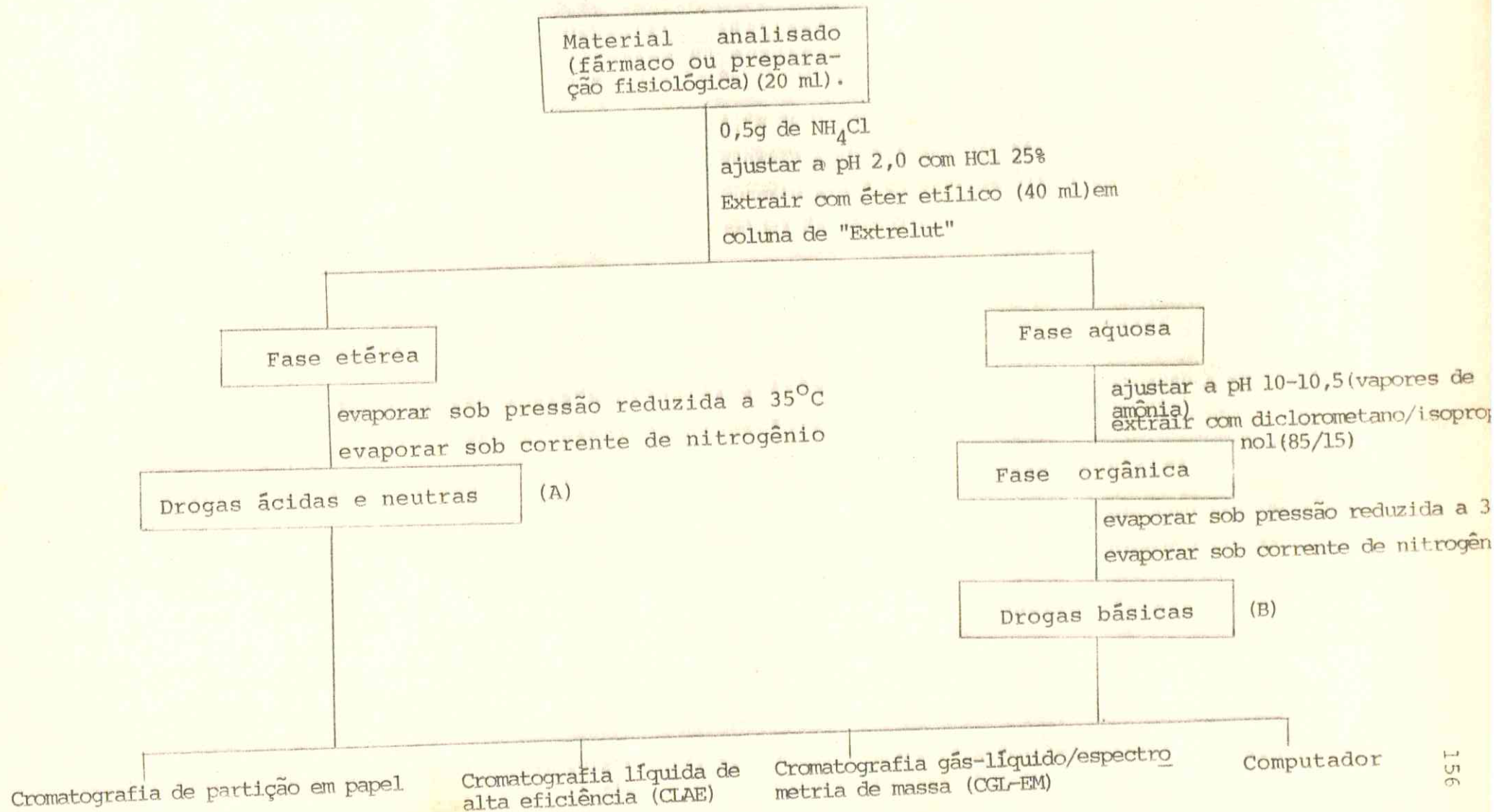


Figura 36. Esquema de marcha analítica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. Gupta, R.N. (Editor), *CRC Handbook of Chromatography Drugs* vol. I, Boca Raton, Florida, 1981.
02. Huber, J.F.K. and Hulsman, J.A.R.J., *Anal. Chim. Acta*, 38, 305, 1967.
03. Kirkland, J.J., *J. Chromatogr. Sci.*, 7, 7, 1969.
04. Michaelis, A.F., Cornish, D.W. and Vivilecchia, R., *J. Pharm. Sci.*, 62, 1399, 1973.
05. Bailey, F. and Brittain, P.N., *Journal of Chromatography*, 83, 431, 1973.
06. Bailey, F., *Journal of Chromatography*, 122, 73, 1976.
07. Wragg, J.S., "Aspects of pharmaceutical analysis. Applications of chromatography", *Pharm. J.*, 212, 264-265, 1974.
08. Gilpin, R.K., Korpi, J.A. and Janicki, C.A., "High-pressure liquid chromatographic determination of propoxyphene hydrochloride in tablets and capsules", *Journal of Chromatography*, 107, 115-123, 1975.
09. Bailey, F., "Pharmaceutical applications of high-efficiency liquid chromatography", *Biochemical Society transactions*, 3(6), 861-864, 1975.
10. Scott, C.D., "Advanced Technology for the clinical laboratory", *Federation Proceedings*, 34(12), 2127-2130, 1975.
11. Knox, J.H. and Pryde, A., "High performance liquid chromatography of pharmaceuticals", *Process Biochemistry*, 10(9), 29-32, 1975.
12. Erni, F., Frei, R.W. and Lindner, W., "A low-cost gradient system for high-performance liquid chromatography. Quantitation of complex pharmaceutical raw materials", *Journal of Chromatography*, 125, 265-274, 1976.

13. Bailey, F., "Applications of high-performance liquid chromatography in the pharmaceutical industry", *Journal of Chromatography*, 122, 73-84, 1976.
14. Tscherne, R.J. and Capitano, G., "High-pressure liquid chromatographic separation of pharmaceutical compounds using a mobile phase containing silver nitrate", *Journal of Chromatography*, 136, 337-341, 1977.
15. Cavina, G., "Moderne tendenze nelle tecniche cromatografiche impiegate nella analisi farmaceutica", *Cronache Farmaceutiche*, 20(3), 103-114, 1977.
16. Achari, R.G. and Theimer, E.E., "Analysis of some drug substances by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatographic Science*, 15, 320-321, 1977.
17. Amin, M. and Schneider, P.W., "Quantitative analysis of active substances in liquid pharmaceutical preparations using high-performance liquid chromatography", *Analyst*, 103, 728-733, 1978.
18. Harle, R.K. and Wood, P.R., "Experiences in the application of HPLC to the analysis of pharmaceutical compounds", *Proc. Anal. Div. Chem. Soc.*, 15(11), 305-307, 1978.
19. Baylocq, D. et Pellerin, F., "Chromatographie liquide haute pression types d'applications au controle des medicaments", *Labo-Pharma*, (278), 593-599, 1978.
20. Gimet, R. et Fillouxe, A., "Identification et dosage d'alcaloides en mélange dans une forme pharmaceutique par chromatographie liquide haute performance" *Journal of Chromatography*, 333-342, 1979.
21. Huen, J.M. and Thevenin, J.P., "Sample preparation for HPLC by automatic tablet extraction", *Chromatographia*, 12(6), 405-407, 1979.
22. Chamberlain, J. "Chromatography in pharmaceutical and forensic analysis. Quantitative analysis of drugs in



- biological fluids by high-performance liquid chromatography", *Proc. Anal. Div. Chem. Soc.*, 16(9) 264-265, 1979.
23. Wheals, B.B., "Isocratic multi-column high-performance liquid chromatography as a technique for qualitative analysis and its application to the characterisation of basic drugs using an aqueous methanol solvent" , *Journal of Chromatography*, 187, 65-85, 1980.
24. Wilson, E.G, Rondina, R.V.D. y Coussio, J.D. "La cromatografía líquida de alta performance-metodo analítico ideal en la industria farmaceutica", *Safibi*, 21(56), 1592-1599, 1981.
25. Hopkins, R.G., "Some applications of liquid chromatography to the analysis of medicinal products", *Anal. Proc.*, 19, 193-195, 1982.
26. Dale, A.D., "Aspects of pharmaceutical analysis. Experiences in high-performance liquid chromatography" , *Anal. Proc.*, 20(5), 200-202, 1983.
27. Gfeller, J.C., Haas, R.; Troendlé, J.M. and Erni, F. , "Practical aspects of spiled in high-performance liquid chromatography for the analysis of pharmaceutical preparations", *Journal of chromatography*, 294, 247-259, 1984 .
28. Cabutti, N.E.F.D.; Sivori, E.R. y Herkovits, J., "Cromatografía líquida de alta presión I. Introducción y aplicaciones", *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 16(4), 595-638, 1982.
29. Wheals, B.B., *Journal of chromatography*, 122, 85, 1976.
30. Beckett, A.H. and Moffat, A.C., "Routine detection and identification in urine of stimulants, analgesics ,



antihistamines, local anaesthetics and other drugs some of which may be used to modify performance in sport," *J. Pharm. Pharmac.*, 20, 40s-50s, 1968.

31. Moffat, A.C., "Combined HPLC-RIA and HPLC-EMIT for the analysis of drugs of abuse in blood and urine", *Acta. Pharm. Suec.*, 15, 482, 1978.
32. Frischkorn, C.G.B. and Frischkorn, H.E., "Investigations of anabolic drug abuse in athletics and cattle feed. II. Specific determination of methandienone (Diana - bol) in urine in nanogram amounts", *Journal of Chromatography*, 151, 331-338, 1978.
33. Lurie, I.S. and Demchuk, S.M., "Optimization of a reverse phase ion-pair chromatographic separation for drugs of forensic interest. Part I - Variables effecting capacity factors", *Journal of Liquid Chromatography*, 4(2), 337-355, 1981.
34. Lurie, I.S. and Demchuk, S.M. "Optimization of a reverse phase ion-pair chromatographic separation for drugs of forensic interest. Part. II - Factors effecting selectivity", *Journal Liquid of Chromatography*, 4(2), 357-374, 1981.
35. Cancelliere, G.; Gasparrini, F. and Misiti, D. "High-performance liquid chromatography and its applications in the biological field", *Italian J. Biochemistry*, 31, (1), 69-74, 1982.
36. Schill, G., "Application of high-performance liquid Chromatography in the biological analysis of drugs",

*Anal. Proc.* 19, 163-166, 1982.

37. Yinon, J., "Forensic applications of LC/MC", *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics* , 48 , 253-256, 1983.
38. Lurie, I.S., "Problems in using high performance liquid chromatography for drug analysis", *J. Forensic Sciences*, 29(2), 607-10, 1984.
39. Brown, P.R. in Gidings, J. C., Editor, *Advances in Chromatography*, 12, 1, Marcel Dekker, New York, 1975.
40. Miyagi, H.; Miura, J.; Takata, Y.; Kamitake, S.; Ganno, S. and Yamagata, Y., "Analysis of body functions using a clinical liquid chromatograph", *Journal of Chromatography*, 239, 733-745, 1982.
41. Marc, V.D.; Leopold, M. and Faouzi, A.K., "Useful sample handlings for reversed phase high performance liquid chromatography in emergency toxicology", *Clinical Toxicology*, 23(7 e 8), 589-614, 1986.
42. Bye, A. and Brown, M.E., "An analytical approach to the quantitation of known drugs in human biological samples by HPLC", *Journal of Chromatographic Science*, 15, 365-371, 1977.
43. Saxena, S.J.; Honigberg, I.L.; Stewart, J.T. and Vallner J.J., "Liquid chromatography in pharmaceutical analysis. VII: Determination of dantrolene sodium in biological fluids", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 66 (5), 751-753, 1977.

44. Overzet, F., "Methodology for isolating drug metabolites from biological fluids by HPLC", *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications*, 5, 604-615, 1982.
45. Voelter, W., Kronbach, T.; Zech, K. and Huber, R. "A simple high-performance liquid chromatographic precolumn technique for investigation of drug metabolism in biological fluids", *Journal of Chromatography*, 239, 475-482, 1982.
46. Verbièse-Genard, N.; Hanocq, M.; Alvoet, C. and Molle, L., "High-performance liquid chromatographic determination of some substituted benzamides in serum after ion-pairing extraction", *Analytical Letters*, 15(B 16), 1317-1330, 1982.
47. Shah, V.P.; Walker, M.A. and Prasad, V.K., "Application of flow programming in the analysis of drugs and their metabolites in biological fluids", *Journal of Liquid Chromatography*, 6(11), 1949-1954, 1983.
48. NG, L.L., "Sample preparation by salts precipitation and quantitation by high-performance liquid chromatography with U.V. detection of selected drugs in biological fluids", *Journal of Chromatography*, 257, 345-353, 1983.
49. Covey, T.R.; Crowther, J.B., Dewey, E.A. and Henion, J. D., "Thermospray liquid chromatography/mass spectrometry determination of drugs and their metabolites in biological fluids", *Analytical Chemistry*, 57,



- (2), 474-481, 1985.
50. Skellern, G.G., "Application of high-performance liquid chromatography to drug metabolism", *Proc. Analyt. Div. Chem. Soc.*, 13(12), 357-359, 1976.
51. Strojny, N.; Puglisi, C.V. and Silva, J.A.F.D., "Determination of chlordiazepoxide and its metabolites in plasma by high pressure liquid chromatography", *Analytical Letters*, B11(2), 135-160, 1978.
52. Skellern, G.G., "Aspects of the analysis of drugs and drug metabolites by high-performance liquid chromatography", *Analyst*, 106, 1071-1075, 1981.
53. Geeraerts, F.; Schimpfessel, L. and Crokaert, R., "Separation of urinary ultraviolet-absorbing metabolites by high-pressure liquid chromatography using a commercially available analytical unit", *Journal of Chromatography*, 145, 63-71, 1978.
54. Shibuya, T.; Sato, K. and Salafsky, B., "Simultaneous measurement of biogenic amines and related compounds by high performance liquid chromatography (HPLC)", *International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology*, 20(7), 297-301, 1982.
55. McKee, R.W.; Kang-Lee, Y.A.; Panagua, M. and Swendseid, M. E., "Determination of nicotinamide and metabolic products in urine by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 230, 309-317, 1982.



56. Todoriki, H.; Hayashi, T. and Naruse, H., "High-performance liquid chromatographic method for screening disorders of aromatic acid metabolism using a multi-detection system". *Journal of Chromatography*, 310, 273-281, 1984.
57. Brown, N.D.; Poon, B.T. and Chulay, J.D., "Chloroquine metabolism in man: urinary excretion of 7-Chloro-4-hydroxyquinoline and 7-chloro-4- aminoquinoline metabolites", *Journal of Chromatography*, 345, 209 - 214, 1985.
58. Gill, R., Lopes, A. T. and Moffat, A.C., "Analysis of barbiturates in blood by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 226(1), 117-123, 1981.
59. Henry, Doug; Block, J.H.; Anderson, J.L. and Carlson, G. R., "Use of High-Pressure liquid chromatography for Quantitative structure- Activity Relationship studies of sulfonamides and Barbiturates", *Journal of Medicinal Chemistry*, 19(5), 619-626, 1976.
60. Schulten, H.R. and Kummeler, D., "Identification of barbiturates from extracts of urine, stomach fluid, liver and kidney by High-Performance Liquid Chromatography and field desorption mass spectrometry", *Analytica Chimica Acta.*, 113, 253-267, 1980.
61. Toon, S. and Rowland, M., "Simple method for the optimization of mobile phase composition for high-perfor-

- mance liquid chromatographic analysis of a multi - component mixture", *Journal of Chromatography*, 208, 391-397, 1981.
62. Koizumi, K.; Kubota, Y.; Miki, H. and Utamura, T., "Determination of barbiturates in mouse tissue by High - performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 205, 401-412, 1981.
63. Jandera, P.; Churavek, J. and Svoboda, L. "Gradient elution in liquid chromatography. X. Retention characteristics in reversed-phase gradient elution chromatography", *Journal of Chromatography*, 174, 35-50, 1979.
64. Hulshaff, A.; Roseboom, H. and Renema, J., "Improved detectability of barbiturates in high-performance liquid chromatography by pre-column labelling and ultraviolet detection", *Journal of Chromatography*, 186, 535-541, 1979.
65. Harbin, D.N. and Lott, P.F., "The identification of drugs of abuse in urine using reverse phase high pressure liquid chromatography", *Journal of Liquid Chromatography*, 3(2), 243-256, 1980.
66. Kinberger, B.; Holmen, A. and Wahrgren, P. "A strategy for drug analysis in serum and urine. An application to drug screening of samples from drivers involved in traffic accidents", *Analytical Letters*, 15(B11), 937-951, 1982.

67. Dong, M.W. and DiCesare, J.L., "Rapid analysis of some commonly abused drugs by LC", *Journal of chromatographic Science*, 20, 330-335, 1982.
68. Lurie, I.S., "Forensic drug analysis by HPLC", *American Laboratory*, 12(10), 35-42, 1980.
69. Kabra, P.M.; Stafford, B.E. and Marton, L.J. "Rapid Method for screening toxic drugs in serum with liquid chromatography", *Journal of Analytical Toxicology*, 5, 177-182, 1981.
70. Hoogmartens, J.; Roets, E. and Vanderhaeghe, H., "Determination of 5-ethyl-5-(1-ethylpropyl) barbituric acid in pentobarbital by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 219, 431-435, 1981.
71. Gill, R.; Stead, A.H. and Moffat, A.C., "Analytical Aspects of barbiturate abuse. Identification of drugs by the effective combination of gas-liquid, high-performance liquid and thin-layer chromatographic techniques", *Journal of Chromatography*, 204, 275-284, 1981.
72. Smith, R.M.; Hurdley, T.G.; Gill, R. and Moffat, A.C., "The Application of Retention Indices Using the Alkylaryl ketone Scale to the separation of the Barbiturates by HPLC. I. The effect of the Eluent", *Chromatographia*, 19, 401-406, 1984.
73. Smith, R.M.; Hurdley, T.G.; Gill, R. and Moffat, A.C. "The Application of Retention Indices Using the Alkylaryl ketone Scale to the Separation of the barbiturates"



by HPLC. II. The Effect of the stationary Phase", *Chromatographia*, 19, 407-410, 1984.

74. Gill, R.; Moffat, A.C.; Smith, K.M. and Hurdley, T.G., "A Collaborative study to investigate the retention reproducibility of barbiturates in HPLC with view to establishing retention databases for Drug Identification", *Journal of Chromatographic Science*, 24, 153 - 159, 1986.
75. Chan, E.M. and Chan, S.C., "Screening for acidic and neutral drugs by high performance liquid chromatography in post-mortem blood", *Journal of Analytical Toxicology*, 8, 173-176, 1984.
76. Rittich, B. and Dubsy, H., "Reversed-phase liquid chromatography. II. Determination of partition coefficients of barbiturates and urea herbicides", *Journal of Chromatography*, 209, 7-13, 1981.
77. Baker, J.K.; Skelton, R.E. and Ma, C-Y, "Identification of drugs by high-pressure liquid chromatography with dual wavelength ultraviolet detection", *Journal of Chromatography*, 168, 417-427, 1979.
78. Gough, T.A. and Baker, P.B., "Identification of major drugs of abuse using chromatography", *Journal of Chromatographic Science*, 20, 289-329, 1982.
79. Gough, T.A. and Baker, P.B., "Identification of major drugs of abuse using chromatography: an Update", *Journal of Chromatographic Science*, 21, 145-153, 1983.



80. Miller, J.M. and Tucker, E., "Use of HPLC for multicomponent serum analysis". *American Laboratory*, 11(1), 17-34, 1979.
81. Brown, P.R., "The use of high-pressure liquid chromatography in pharmacology and toxicology", *Adv. Chromatography*, 12, 1-30, 1975.
82. Gonnet, C. et Rocca, J.L., "Separation de produits pharmaceutiques par chromatographie en phase liquide à haute performance. II Influence de l'eau," *Journal of Chromatography*, 120, 419-433, 1976.
83. Hartwich, R.A. and Brown, P.R., "The use of high pressure liquid chromatography in clinical chemistry and biomedical research", *Advances in Clinical Chemistry* 21, 25-99, 1980.
84. Lurie, I.S., "Improved isocratic mobile phases for the reverse phase ion-pair chromatographic analysis of drugs of forensic interest", *Journal of Liquid Chromatography*, 4(3), 399-408, 1981.
85. Macek, K. and Reháč, V., "High-resolution liquid chromatography of some psychotropic drugs", *Journal of Chromatography*, 105, 182-185, 1975.
86. Noggle, F.T. Jr. and Clark, C.R., "Identification of some Benzodiazepines of Forensic Interest", *J. Assoc. Of. Anal. Chem.*, 62(4), 799-807, 1979.
87. Lensmeyer, G.L; Rajani, C. and Evenson, M.A., "Liquid Chromatographic procedure for simultaneous analysis"

for eight benzodiazepines in serum", *Clin. Chem.*, 28  
(11), 2274-2278, 1982.

88. Kinberger, B. and Wahrgren, P., "Determination of benzodiazepines in serum by high-performance liquid chromatography using radially compressed columns and an aqueous methanolic mobile phase", *Analytical Letters*, 15(B6), 549-557, 1982.
89. Phu-Lich, N.; Boubakeur, N. et Moan, G.L., "Analyse de quelques benzodiazepines par chromatographie liquide de haute performance", *Ann. Fals. Expert. Chim.* 75(810), 387-392, 1982.
90. Wong, A.S., "An evaluation of HPLC for the screening and quantitation of benzodiazepines and acetaminophen in post mortem blood", *Journal of Analytical Toxicology*, 7, 33-36, 1983.
91. Edinboro, L.E. and Backer, R.C., "Preliminary report on the application of a high-performance liquid chromatographic method for alprazolam in postmortem blood specimens"., *Journal of Analytical Toxicology*, 9, 207-208, 1985.
92. Hooper, W.D.; Roome, J.A.; King, A.R.; Smith, M.T.; Eadie M.J. and Dickinson, R.G., "Simple and reliable determination of bromazepam in human plasma by high-performance liquid chromatography", *Analytica Chimica Acta*, 177, 267-271, 1985.
93. Violon, C. and Vercruyss, A. "Screening procedure for

- the therapeutic benzodiazepines by high-performance liquid chromatography of their benzophenones", *Journal of Chromatography*, 189, 94-97, 1980.
94. Tjaden, U.R.; Meeles, M.T.H.A.; Thys, C.P. and Van der Kaay M., "Determination of some benzodiazepines and metabolites in serum, urine and saliva by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 181, 227-241, 1980
95. Villet, A.; Alary, J. et Coeur, A., "Separation Chromatographique des azepines. Nano chromatographie sur couche mince et chromatographie en phase liquide sous pression", *Talanta*, 27, 659-663, 1980.
96. Wittwer, J.D.Jr., "Application of high Pressure Liquid chromatography to the forensic analysis of several benzodiazepines", *Journal of Liquid Chromatography*, 3(11), 1713-1724, 1980.
97. Ratnaraj, N.; Goldberg, V.D.; Elyas, A. and Lascelles, P. T., "Determination of Diazepam and its major metabolites using high-performance liquid chromatography", *Analyst*, 106, 1001-1004, 1981.
98. Good, T.J. and Andrews, J.S., "The use of bonded-phase extraction columns for rapid sample preparation of benzodiazepines and metabolites from serum for HPLC analysis", *Journal of Chromatographic Science*, 19, 562-566, 1981.



99. Rao, S.N.; Dhar, A.K.; Kutt, H. and Okamoto, M., "Determination of diazepam and its pharmacologically active metabolites in blood by bond elut<sup>TM</sup> column extraction and reversed-phase High-Performance Liquid Chromatography", *Journal of Chromatography*, 231, 341 - 348, 1982.
100. Violon, C., Pessemier, L. and Vercruyse, A., "High-performance liquid chromatography of benzophenone derivatives for the determination of benzodiazepines in clinical emergencies", *Journal of Chromatography*, 236, 157-168, 1982.
101. Smith, F.M. and Nuëssle, N.O., "HPLC method for determination of diazepam injection", *Analytical Letters*, 15, (B4), 363-371, 1982.
102. Sohr, C.J. and Buechel, A.T., "Separation of parent benzodiazepines and their major metabolites by reverse phase ion-pair chromatography", *Journal of Analytical Toxicology*, 6, 286-289, 1982.
103. Wong, A.S., "An evaluation of HPLC for the screening and quantitation of benzodiazepines and acetaminophen in post mortem blood", *Journal of Analytical Toxicology*, 7, 33-36, 1983.
104. Heizmann, P.; Geschke, R. and Zinapold, K., "Determination of bromazepam in plasma and of its main metabolites in urine by reversed-phase high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 310, 129-137, 1984.



105. Gill, R.; Law, B. and Gibbs, J.P., "High-performance liquid chromatography systems for the separation of benzodiazepines and their metabolites", *Journal of Chromatography*, 356(1), 37-46, 1986.
106. Barbato, F.; Silipo, C. and Vittoria, A., "Identificazione e dosaggio di psicofarmaci a struttura fenotiazinica mediante HPLC", *Boll. Soc. It. Biol. Sper*, LVI, 886-891, 1980.
107. Murakami, K.; Ueno, T.; Hijikata, J.; Shirasawa, K. and Muto, T., "Simultaneous determination of Chlorpromazine and levomepromazine in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography using electrochemical detection", *Journal of Chromatography*, 227(1), 103-112, 1982.
108. Crurry, S.H.; Brown, E.A.; Hu, O.Y.P. and Perrin, J.H., "Liquid chromatographic assay of phenothiazine, thioxanthene and butyrophenone neuroleptics and antihistamines in blood and plasma with conventional and radial compression columns and U.V. and electrochemical detection", *Journal of Chromatography*, 231, 361-376, 1982.
109. Butterfield, A.G. and Sears, R.W., "High-performance liquid chromatographic determination of perphenazine and amitriptyline hydrochloride in two-component tablet formulations", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 66(8), 1117-1119, 1977.
110. Allender, W.J.; Archer, A.W. and Dawson, A.G., "Extraction and analysis of chlorpromazine and its major metabolites in post mortem material by enzymic digestion"

- and HPLC", *Journal of Analytical Toxicology*, 7, 203-206, 1983.
111. Detaevernier, M.R.; Dryon, L. and Massart, D.L., "The separation of some tricyclic antidepressants by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 128, 204-207, 1976.
112. Johnson, S.M.; Chan, C.; Cheng, S.; Shimek, J.L.; Nygard, G. and Khalil, S.K.W., "Isocratic high-performance liquid chromatographic method for the determination of tricyclic antidepressants and metabolites in plasma", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(9), 1027-1030, 1982.
113. Yang, S. and Evenson, M.A., "Simultaneous liquid chromatographic determination of antidepressant drugs in human plasma", *Analytical Chemistry*, 55(7), 994-998, 1983.
114. Visser, T.; Oostelbos, M.C.J.M. and Toll, P.J.M.M., "Reliable routine method for the determination of antidepressant drugs in plasma by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 309, 81-93, 1984.
115. Lovering, E.G.; Beaulieu, N.; Lawrence, R.C. and Sears, R.W., "Liquid chromatographic method for identity, assay, and content uniformity of five tricyclic drugs", *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 68(2), 168-171, 1985.
116. Van den Berg, J.H.M.; De Ruwe, H.J.J.M., Deelder, R.S. and Plomb, Th. A. "Column liquid chromatography at tricyclic antidepressants", *Journal of Chromatography*, 138, 431-436, 1977.

117. De Zeeuw, R.A. and Westenbergh, H.G.M., "A rapid screening procedure for tricyclic antidepressant drugs in body fluids by means of high-performance liquid chromatography", *Journal of Analytical Toxicology*, 2, 229-232, 1978.
118. Watson, I.D., "HPLC analysis of antidepressants on silica gel", *Proc. Anál. Div. Chim. Soc.* 16(10), 293-297, 1979.
119. Spencer, P.S.J.; Moyes, R.B. and Moyes, I.C.A., "Metabolism and pharmacokinetics of clomipramine. Measurement of plasma antidepressant levels by high-performance liquid chromatography", *Postgraduate Medical Journal*, 53(4), 117-123, 1977.
120. Sonsalla, P.K.; Jennison, T.A. and Finkle, B.S., "Quantitative liquid-chromatographic technique for the simultaneous assay of tricyclic antidepressant drugs in plasma or serum", *Clinical Chemistry*, 28(3), 457-461, 1982.
121. Hackett, L.R.I.C.L.P.; A.A.I.M.T. and Dusci, A.R.A.C.I.L.J. "The use of high-performance liquid chromatography in clinical toxicology. II. Tricyclic antidepressants", *Clinical Toxicology*, 15(1), 55-61, 1979.
122. Fekete, J.; Del Castilho, P. and Kraak, J.C., "Reversed-phase liquid chromatography for the separation of chlorpromazine, imipramine and some of their metabolites", *Journal of Chromatography*, 204, 319-327, 1981.
123. Wallace, J.E.; Shimok, E.L., Jr.; Harris, S.C., "Determination of tricyclic antidepressants by high-performance li-



- quid chromatography". *Journal of Analytical Toxicology*, 5, 20-23, 1981.
124. Kabra, P.M.; Mar, N.A. and Marton, L.J. "Simultaneous liquid chromatographic analysis of amitriptyline, imipramine, desipramine, doxepin, and nordoxepin", *Clinica Chimica Acta*, 111, 123-132, 1981.
125. Bannister, S.J.; Van der Wal, S.J.; Dolan, J.W. and Snyder, L.R., "Liquid-Chromatographic analysis for common tricyclic antidepressant drugs and their metabolites in serum or plasma with the technicon "FAST-LC" System", *Clinical Chemistry*, 27(6), 849-855, 1981.
126. Breutzmann, D.A. and Bowers, L.D., "Reversed-Phase liquid Chromatography and Gas Chromatography/Mass Fragmentography compared for determination of tricyclic antidepressant drugs", *Clinical Chemistry*, 27(11), 1907-1911, 1981.
127. Wong, S.H.Y. and Waugh, S.W., "Determination of the antidepressants maprotiline and amoxapine and their metabolites, in plasma by liquid chromatography", *Clinical Chemistry*, 29(2), 314-318, 1983.
128. Rop, P.P.; Conquey, T.; Gouezo, F.; Viala, A. and Grimaldi, F., "Determination of metapramine, imipramine, trimipramine and their major metabolites in plasma by reversed-phase column liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 375, 339-347, 1986.
129. Lagerstrom, P.O.; Marle, I. and Persson, B.A., "Solvent extraction of tricyclic amines from blood plasma and



- liquid chromatographic determination", *Journal of Chromatography*, 273, 151-160, 1983.
130. Pacá Ková, V.; Stulik, K. and Tomková, H., "Determination of some tricyclic neuroleptics by reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet and polarographic detection", *Journal of Chromatography*, 298, 309-318, 1984.
131. Lensmeyer, G.L. and Evenson, M.A., "Stabilized analysis of antidepressant drugs by solvent-recycled liquid chromatography: Procedure and proposed resolution mechanisms for chromatography", *Clinical Chemistry*, 30(11), 1774-1779, 1984.
132. Norman, T.R. and Maguire, K.P., "Review. Analysis of tricyclic antidepressant drugs in plasma and serum by chromatographic techniques", *Journal of Chromatography*, 340, 173-197, 1985.
133. King, L.A., "Analysis of drugs encountered in fatal poisoning using high-performance liquid chromatography and fluorescence detection", *Journal of Chromatography*, 208, 113-117, 1981.
134. Adams, R.F. and Vandemark, F.L., "Simultaneous high-pressure liquid chromatographic determination of some anticonvulsants in serum", *Clinical Chemistry*, 22(1), 25-31, 1976.
135. Adams, R.F.; Schmidt, G.J. and Vandemark, F.L., "A micro liquid column chromatography procedure for twelve anticonvulsants and some of their metabolites", *Journal of Chromatography*, 145, 275-284, 1978.

136. Dykeman, R.W. and Ecobichon, D.J., "Simultaneous determination of phenytoin, phenobarbital and their parahydroxylated metabolites in urine by reversed phase high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 162, 104-109, 1979.
137. Chow, S.A.; Charkowski, D.M. and Fischer, L.J., "Separation of phenytoin and its metabolites by high-performance liquid chromatography", *Life Sciences*, 27 (25-26), 2477-2482, 1980.
138. Kabra, P.M.; Nelson, M.A. and Marton, L.J., "Simultaneous very fast liquid-chromatographic analysis of ethosuximide, primidone, phenobarbital, phenytoin, and carbamazepine in serum", *Clinical Chemistry*, 29(3), 473-476, 1983.
139. Ou, C-N and Rognerud, C.L., "Simultaneous measurement of ethosuximide, primidone, phenobarbital, phenytoin, carbamazepine, and their bioactive metabolites by liquid chromatography", *Clinical Chemistry*, 30(10), 1667-1670, 1984.
140. Miller, T.D. and Pinkerton, T.C., "Determination of free phenytoin in plasma by ultrafiltration and high-performance liquid chromatography", *Analytica Chimica Acta*, 170, 295-300, 1985.
141. Andriolo, A., "Determinação simultânea de quatro anti-convulsivantes por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC)", *Rev. Bras. Pat. Clin.*, 22(1), 2-9, 1986.

142. Williams, R.C. and Viola, J.L., "Application of an automated extractor/concentrator to the analysis of anticonvulsant drugs in blood serum by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 185, 505-513, 1979.
143. Kraak, J.C.; Smedes, F. and Meijer, J.W.A., "Application of on-column concentration of deproteinized serum to the HPLC-Determination of anticonvulsants", *Chromatographica*, 13(11), 673-676, 1980.
144. Wad, N., "Rapid extraction method for ethosuximide and other antiepileptics in serum for determination by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 338, 460-462, 1985.
145. George, R.C., "Improved sample treatment before liquid chromatographic determination of anticonvulsants in serum", *Clinical Chemistry*, 27(1), 198-199, 1981.
146. Lee, D.P., "Reversed-phase HPLC from pH 1 to 13", *Journal of Chromatographic Sciences*, 20, 203-208, 1982.
147. Haroon, Y. and Keith, D.A., "High-performance liquid chromatography of anticonvulsants-micro-assay for phenytoin and phenobarbital", *Journal of Chromatography*, 276, 445-450, 1983.
148. Soto-Otero, R. and Sierra-Marcuño, G., "Improved simultaneous liquid-chromatographic determination of antiepileptic drugs in plasma", *Clinical Chemistry*, 30(5), 817-818, 1984.
149. Kumps, A.; Genin-Ramakers, J. and Mardens, Y., "Simultaneous determination of anticonvulsant drugs and



- metabolites in plasma by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 342 (2), 469-471, 1985.
150. Juergens, U., "Routine determination of eight common anti-epileptic drugs and metabolites by high-performance liquid chromatography using a column switching system for direct injection of serum samples", *Journal of Chromatography*, 310, 97-106, 1984.
151. Kushida, K. and Ishizaki, T., "Concurrent determination of valproic acid with other antiepileptic drugs by high-performance liquid chromatography" *Journal of Chromatography*, 338, 131-139, 1985.
152. Low, G.K.C.; Duffield, A.M. and Haddad, P.R., "Peak-Splitting in Reversed - phase, ion-pair high-performance liquid chromatography of sympathomimetic drugs and its probable mechanism", *Chromatographia*, 15 (5), 1982.
153. Miller, K.J.; Gal, J. and Ames, M.M., "High-performance liquid chromatographic resolution of enantiomers of 1-phenyl-2-aminopropanes (amphetamines) with four chiral reagents". *Journal of Chromatography*, 307, 335-342, 1984.
154. Lambrechts, M. and Rasmussen, K.E., "Use of bonded-phase silica sorbents for rapid sampling of impurities in illicit amphetamine for high-performance liquid chromatographic analysis", *Journal of Chromatography*, 331, 339-348, 1985.



155. Twitchett, P.J. and Moffat, A.C., "High-pressure liquid chromatography of drugs. An evaluation of an octadecylsilane stationary phase", *Journal of Chromatography*, 111, 149-157, 1975.
156. Jane, I. "The separation of a wide range of drugs of abuse by high-pressure liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 111, 227-233, 1975.
157. Achari, R.G. and Jacob, J.T., "A study of the retention behavior of some basic drug substances by ion-pair HPLC", *Journal of Liquid Chromatography*, 3(1), 81-92, 1980.
158. Baker, D.R., "Applications of an HPLC system in pharmaceutical analyses". *American Laboratory*, 8(2), 93 - 101, 1976.
159. Wheals, B.B., "Forensic Analysis Forensic applications of liquid chromatography", *Proc. Analyt. Div. Chem. Soc.*, 13(6), 164-168, 1976.
160. Wheals, B.B., "Forensic aspects of high-pressure liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 122, 85-105, 1976.
161. Law, B.; Gill, R. and Moffat, A.C. "High-performance liquid chromatography retention data for 84 basic drugs of forensic interest on a silica column using an aqueous methanol eluent", *Journal of Chromatography*, 301, 165-172, 1984.
162. Horstman, M., "Simple high-performance liquid chromatographic method for rapid determination of nicoti-

- ne and cotinine in urine", *Journal of Chromatography*, 344, 391-396, 1985.
163. Nakahara, Y. and Sekine, H., "Automatic extraction using the mini-column liquid chromatography method for analysis of drugs of abuse in biological fluids" , *Chromatographia*, 19, 131-136, 1984.
164. Gupta, D.V., "Quantitative determination of benzoic acid and salicylic acid in ointments by high-pressure liquid chromatography", *Journal of Pharmaceutical* 66(1), 110-111, 1977.
165. Gupta, D.V., "High-pressure liquid chromatographic determination of salicylic acid in aspirin powder and pharmaceutical dosage forms", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 69(1), 113-115, 1980.
166. Gupta, D.V., "Simultaneous quantitation of acetaminofen, aspirin, caffeine, codeine phosphate, phenacetin, and salicylamide by high-pressure liquid chromatography", *Journal of Pharmaceutical Sciences* 69(1), 110-112, 1980.
167. Halstead, G.W., "Determination of amine ingredients in cough-cold liquids by reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatography", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(10), 1108-1112, 1982.
168. Haddad, P.; Hutchins, S. and Tuffy, M., "High performance liquid chromatography of some analgesic compounds", *Journal of Chemical Education*, 60(2), 166-168, 1983.
169. Krieger, D.J., "Liquid chromatography determination of

- acetaminofen in multicomponent analgesic tablets", *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 67(2), 339-341, 1984.
170. Jalal, I.M. and Sa'Sa', S.I., "Simultaneous determination of dextropropoxyphene, napsylate, caffeine, aspirin and salicylic acid in pharmaceutical preparations by reversed-phase HPLC", *Talanta*, 31(11), 1015-1017, 1984.
171. Hackett, L.P. and Dusci, L.J., "High performance liquid chromatography in clinical toxicology. I. General drugs", *Clinical Toxicology*, 13(5), 551-556, 1978.
172. Williams, K.J.; Po, A.L.W. and Irwin, W.J., "Sample-solvent-induced peak broadening in the reversed-phase high-performance liquid chromatography of aspirin and related analgesics", *Journal of Chromatography*, 194, 217-223, 1980.
173. Meakin, G. and Allington, R., "Automated high performance liquid chromatography", *American Laboratory*, 12(8), 65-71, 1980.
174. Pfeiffer, C.D. and Pan Key, J.W., "Determination of related compounds in aspirin by liquid chromatography", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(5), 511-514, 1982.
175. Hamilton, M. and Kissinger, P.T., "Determination of acetaminofen metabolites in urine by liquid chromatography/electrochemistry", *Analytical Biochemistry*, 125, 143-148, 1982.
176. Ogunbona, F.A., "Simultaneous liquid chromatographic determination of aspirin and the metabolites in hu-



- man urine", *Journal of Chromatography*, 377, 471-474, 1986.
177. Hanai, T. and Hubert, J., "Analysis of urine by liquid chromatography in the ion-exchange or hydrophobic mode", *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications*, 4(10), 500-507, 1981.
178. Van der Wal, S.J.; Bannister, S.J. and Snyder, L.R., "Automated analysis of acetaminofen and caffeine in serum using the FAST-LC system: contributions to assay imprecision in procedures based on HPLC with sample pretreatment", *Journal of Chromatography Science*, 20, 260-265, 1982.
179. Sisco, W.R.; Rittenhouse, C.T. and Everhart, L.A., "Simultaneous high-performance liquid chromatographic stability-indicating analysis of acetaminofen and codeine phosphate in tablets and capsules", *Journal of Chromatography*, 348(1), 253-263, 1985.
180. Sisco, W.R., Rittenhouse, C.T.; Everhart, L.A. and McLaughlin, A.M., "Simultaneous high-performance liquid chromatographic stability-indicating analysis of acetaminophen, codeine phosphate, and sodium benzoate in elixirs", *Journal of Chromatography*, 354, 355-366, 1986.
181. Duggin, G.G., "Phenacetin estimation from biological samples by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 121, 156-160, 1976.
182. Cox, G.B., Loscombe, C.R. and Sugden K. "Some applications of bonded-phase high-performance liquid chromatography"



- graphy to the analysis of pharmaceutical formulations", *Analytica Chimica Acta*, 92, 345-352, 1977.
183. Prescott, L.F.; King, I.S.; Brown, L.; Balili, M. and Adriaenssens, P.I.. "HPLC in clinical pharmacological studies of analgesic drugs", *Proc. Analyt. Div. Chem. Soc.*, 16(10), 300-302, 1979.
184. Twitchett, P.J. "High pressure liquid chromatography (HPLC)", *Chemistry in Britain*, 11(12), 443-444, 1975.
185. Baker, J.K.; Skelton, R.E.; Riley, T.N. and Bagley, J. R., "Estimation of high pressure liquid chromatographic retention indices of narcotic analgetics and related drugs", *Journal of Chromatographic Science*, 18, 153-158, 1980.
186. Stubbs, R.J.; Chiou, R. and Bayne, W.F., "Determination of codeine in plasma and urine by reversed-phase high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 377, 447-453, 1986.
187. Baker, P.B. and Gough, T.A., "The separation and quantitation of the narcotic components of illicit heroin using reversed-phase high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography Science*, 19, 483-489, 1981.
188. O'Neil, P.J., Baker, P.B. and Gough, T.A. "Illicitly imported heroin products: some physical and chemical features indicative of their origin", *Journal of Forensic Sciences*, 29(3), 889-902, 1984.
189. Schwartz, R.S. and David, K.O. "Liquid chromatography of opium alkaloids, heroin, cocaine, and related

compounds using electrochemical detection, *Analytical Chemistry*, 57(7), 1362-1366, 1985.

190. Bedford, K.R. and White, P.C., "Improved method for the simultaneous determination of morphine, codeine and dihydrocodeine in blood by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection", *Journal of Chromatography*, 347(3), 398-404, 1985.
191. Svensson, J.O., "Determination of morphine, morphine-6-glucuronide and morphine in plasma and urine with high-performance liquid chromatography and electrochemical detection", *Journal of Chromatography*, 375, 174-178, 1986.
192. Lindberg, W.; Johansson, E. and Johansson, K., "Application of statistical optimization methods to the separation of morphine, codeine, noscapine and papaverine in reversed-phase ion-pair chromatography", *Journal of Chromatography*, 211, 201-212, 1981.
193. Allen, A.C.; Cooper, D.A.; Kiser, W.O. and Cottrell, R. C., "The cocaine diastereoisomers", *Journal of Forensic Sciences*, 26(1), 12-26, 1981.
194. Garrett, E.R. and Seyda, K., "Prediction of stability in pharmaceutical preparations. XX: Stability evaluation and bioanalysis of cocaine and benzoylecgonine by high-performance liquid chromatography", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(3), 258 - 271, 1983.
195. Noggle, F.T., Jr. and Clark, C.R., "Liquid chromatographic analysis of samples containing cocaine, local

- anesthetics, and other amines", *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 66(1), 151-157, 1983.
196. Bastian, D.W.; Miller, R.L.; Halline, A.G.; Senftleber, F.C. and Veening, H., "High-performance liquid chromatography of urinary compounds", *Journal of Chemical Education*, 54(12), 766-768, 1977.
197. Scott, N.R.; Chakraborty, J. and Marks, V., "Determination of the urinary metabolites of caffeine and theophylline by high-performance liquid chromatography. A comparative study of a direct injection and an ion-pair extraction procedure", *Journal of Chromatography*, 375, 321-329, 1986.
198. Van der Meer, C. and Haas, R.E., "Determination of caffeine in serum by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 182(1), 121-124, 1980.
199. Bonati, M.; Castelli, D.; Latini, R. and Garattini, S., "Comparison of gas-liquid chromatography with nitrogen-phosphorus selective detection and high-performance liquid chromatography methods for caffeine determination in plasma and tissue", *Journal of Chromatography*, 164(1), 109-113, 1979.
200. Tse, F.L.S. and Szeto, D.W., "Reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of caffeine and its N-demethylated metabolites in dog plasma", *Journal of Chromatography*, 226(1), 231-236, 1981.
201. Berg, R.G.; Murta, A. L.M.; Kugler, W. e Oliveira, P.L.



- C., "Determinação de cafeína em alguns cafés solúveis brasileiros por cromatografia líquida de alta eficiência", *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 4(2), 116-121, 1984.
202. Matsui, H.; Kasao, M. and Imamura, S., "High-performance liquid chromatographic determination of hippuric acid in human urine", *Journal of Chromatography*, 145, 231-236, 1978.
203. Yoshida, Y.; Harada, A.; Kono, K.; Toyota, S.; Watanabe, M. and Shibuya, Y., "Gas and liquid chromatographic determination of urinary hippuric acid as an index of toluene exposure", *Bulletin of the Osaka Medical School*, 24(2), 68-78, 1978.
204. Moriyasu, M.; Hashimoto, Y. and Endo, M.; "High-performance liquid chromatographic determination of organic substances by metal chelate derivatization. I. Dithiocarbamate chelates of aliphatic amines", *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 54(11), 3369-3373, 1981.
205. Bellati, M. and Parolari, G., "Aliphatic secondary amines in meat and fish products and their analysis by high pressure liquid chromatography", *Meat Science*, 7, 59-65, 1982.
206. Desager, J.P. and Sclavons, M., "HPLC with UV-VIS spectrophotometric detection for blood and tissue drug assays", *Chromatographia*, 15(7), 451-452, 1982.
207. Caudill, W.L. and Wightman, R.M., "Trinitrobenzenesulfonic acid: a chromophore electrophore and pre-column derivatizing agent for high-performance liquid chromatography of alkyl-amines", *Analytica*



*Chimica Acta*, 141, 269-278, 1982.

208. Korte, W.D., "9-(Chloromethyl)anthracene: a useful derivatizing reagent for enhanced ultraviolet and fluorescence detection of carboxylic acids with liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 243, 153-157, 1982.
209. Gisler, G.C.; Diaz, J. and Durán, N., "Electronically excited species in the spontaneous chemiluminescence of urine and its uses in the detection of pathological conditions", *Physiol. Chem. Phys.*, 14, 335-342, 1982.
210. Venema, K.; Leever, W.; Bakker, J.O.; Haayer, G. and Korf, J., "Automated precolumn derivatization device to determine neurotransmitter and other amino acids by reversed-phase high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 260, 371-376, 1983.
211. Jones, B.N. and Gilligan, J.P., "o-Phthaldialdehyde precolumn derivatization and reversed-phase high-performance liquid chromatography of polypeptide hydrolysates and physiological fluids", *Journal of Chromatography*, 266, 471-482, 1983.
212. Goldstein, D.S., "Modified sample preparation of high-performance liquid chromatographic-electrochemical assay of urinary catecholamines", *Journal of Chromatography*, 275, 174-177, 1983.
213. Xie, K-H.; Colgan, S. and Krull, I.S., "Solid phase reactions for derivatization in HPLC (HPLC-SPR)", *Journal of Liquid Chromatography*, 6(s-2), 125-

- 151, 1983.
214. Low, G.K.C.; Haddad, P.R. and Duffield, A.M., "High-performance liquid chromatography of ternary Nickel dithiocarbamate complexes derived from some sympathomimetic drugs", *Chromatographia*, 17(1), 16-22, 1983.
215. Gal, J. and Sedman, A.J., "R- $\alpha$ -methylbenzyl isothiocyanate a new and convenient chiral derivatizing agent for the separation of enantiomeric amino compounds by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 314, 275-281, 1984.
216. Mellbin, G. and Smith, B.E.F., "Trace determination of aliphatic amines using high-performance liquid chromatography with chemiluminescence excitation and photon counting", *Journal of Chromatography*, 312, 203-210, 1984.
217. Kai, M.; Miyazaki, T. and Ohkura, Y., "High-performance liquid chromatographic measurement of guanidine compounds of clinical importance in human urine and serum by pre-column fluorescence derivatization using benzoin", *Journal of Chromatography*, 311, 257-266, 1984.
218. Spahn, H.; Weber, H. and Mutschler, E., " $\alpha$ -Alkyl- $\alpha$ -arylacetic acid derivatives as fluorescence markers for thin-layer chromatographic assay of amines and alcohols", *Journal of Chromatography*, 310, 167-178, 1984.
219. Mahachi, T.J.; Carlson, R.M. and Poe, D.P., "p-N,N-dimethyl-aminophenylisothiocyanate as an electrochemi-

- cal label for high-performance liquid chromatographic determination of amino acids", *Journal of Chromatography*, 298, 279-288, 1984.
220. Tanaka, M.; Shimada, K. and Nambara, T., "Novel ferrocene reagent for pre-column labelling of amines in high-performance liquid chromatography with electrochemical detection", *Journal of Chromatography*, 292(2), 410-411, 1984.
221. Buck, R.H. and Krummen, K., "High-performance liquid chromatography with automated pre-column derivatization for amino acids", *Journal of Chromatography*, 303, 238-243, 1984.
222. Leroy, P. and Nicolas, A., "Determination of secondary amino drugs as their metal dithiocarbamate complexes by reversed-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection", *Journal of Chromatography*, 317, 513-521, 1984.
223. Fell, A.F.; Clark, B.J. and Scott, H.P., "Computer-aided strategies for archive retrieval and sensitivity enhancement in the identification of drugs by photodiode array detection in high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 316, 423-440, 1984.
224. Bontemps, J.; Laschet, J.; Dandrifosse, G.; Cutsem, J-L. V. and Forget, P-P., "Analysis of dansyl derivatives of di- and poly-amines in mouse brain, human serum and duodenal biopsy specimens by high-performance liquid chromatography on a standard reversed-phase column", *Journal of Chromatography*, 311, 59-



67, 1984.

225. Imai, K.; Toyo'oka, T. and Miyano, H., "Fluorogenic reagents for primary and secondary amines and thiols in high-performance liquid chromatography", *Analyst*, 109(11), 1365-1373, 1984.
226. Hayman, A.R.; Gray, D.O. and Evans, S.V., "New High - performance liquid chromatography system for the separation of biogenic amines as their Dns derivatives", *Journal of Chromatography*, 325, 462-466, 1985.
227. Takayanagi, H.; Tokuda, H.; Uehira, H.; Fujimura, K. and Ando, T., "Ligand-exchange high-performance liquid chromatography of aliphatic amines", *Journal of Chromatography*, 356(1), 15-25, 1986.
228. Kawase, J.; Ueno, H.; Nakae, A. and Tsuji, K., "High-performance liquid chromatography of urea and related compounds with post-column derivatization", *Journal of Chromatography*, 252, 209-216, 1982.
229. Simpson, R.C.; Spriggle, J.E. and Veening, H., "Off-line liquid chromatographic-mass spectrometric studies of o-phthaldehyde-primary amine derivatives", *Journal of Chromatography*, 261, 407-414, 1983.
230. LePage, J.N. and Rocha, E.M., "Liquid chromatography with postcolumn reaction for detection of amines and amino acids", *Analytical Chemistry*, 55(8), 1360-1364, 1983.
231. Honda, S.; Takahashi, M.; Araki, Y. and Kakehi, K., "Postcolumn derivatization of catecholamines with 2-cyanoacetamide for fluorimetric monitoring in high-performance liquid chromatography", *Journal of*



*Chromatography*, 274, 45-52, 1983.

232. Kudoh, M.; Match, I. and Fudano, S., "Determination of tertiary aliphatic amines by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 261, 293-297, 1983.
233. Himuro, A.; Nakamura, H. and Tamura, Z., "Fluorometric determination of secondary amines by high-performance liquid chromatography with post-column derivatization", *Journal of Chromatography*, 264, 423-433, 1983.
234. Brinkman, U.A. Th. and Frei, R.W., "Selective detection in liquid chromatography through post-column derivatization and fluorescence monitoring", *Anal. Proc.*, 20(7), 354-356, 1983.
235. Honda, S.; Kanishi, T. and Suzuki, S. "Electrochemical detection of reducing carbohydrates in high-performance liquid chromatography after post-column derivatization with 2-cyanoacetamide", *Journal of Chromatography*, 299, 245-251, 1984.
236. Jane, I.; McKinnon, A. and Flanagan, R.J., "High-performance liquid chromatographic analysis of basic drugs on silica columns using non-aqueous ionic eluents. II. Applications of UV, fluorescence and electrochemical oxidation, detection". *Journal of Chromatography*, 323, 191-225, 1985.
237. Jupille, T.H., "Derivatization for detectability in HPLC", *American Laboratory*, 85-92, 1976.
238. Pirkle, W.H. and Hyun, M.H., "A chiral stationary phase for the facile resolution of amino acids, amino alcohols, and amines as the N-3,5-dinitrobenzoyl deri-

- vatives", *Journal of Organic Chemistry*, 48(17), 3043-3046, 1984.
239. Seiler, N.; Demisch, L.; Blau, K. and King, G.S.(Editors), *Handbook of Derivatives for Chromatography*, pp. 356-390, Heyden, London, 1978.
240. Knapp, D.R., *Handbook of Analytical Derivatization Reactions*, Wiley, New York, 1979.
241. Spahn, H.; Weber, H. and Mutschler, E., *Journal of Chromatography*, 310, 167, 1984.
242. Melbin, G., *Journal Liquid Chromatography*, 6, 1603, 1983.
243. Kobayashi, S. and Imai, K., *Analytical Chemistry*, 52, 424, 1980.
244. Kobayashi, S.; Sekino, J.; Honda, K. and Imai, K., *Anal. Biochem.*, 112, 99, 1981.
245. Curtis, T.G. and Seitz, W.R., *Journal of Chromatography*, 134, 343, 1977.
246. Melbin, G. and Smith, B.E.F., *Journal of Chromatography*, 312, 203, 1984.
247. Bratin, K. and Kissinger, P.T., *Journal Liquid Chromatography*, 4(2), 321, 1981.
248. Bratin, K. and Kissinger, P.T., *Journal Liquid Chromatography*, 4, 1777, 1981.
249. Shimada, K.; Tanaka, M. and Nambara, T., *Chem. Pharm. Bull.*, 27, 2259, 1979.
250. Kudoh, M.; Match, I. and Fudanc, S., *Journal of Chromatography*, 261, 293, 1983.
251. Noggle, F.T. Jr., and Clark, C.R., "Liquid chromatographic determination of primary and secondary amines as 8-quinolinesulfonyl chloride derivatives", *J.*

- Assoc. Off. Anal. Chem.*, 67(4), 687-691, 1984.
252. Bjorkqvist, B., "Separation and determination of aliphatic and aromatic amines by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection", *Journal of Chromatography*, 204, 109, 1981.
253. Shriner, R.L.; Fuson, R.C. and Curtin, D.Y., *The Systematic Identification of Organic Compounds*, p. 310, 5th ed., Wiley, New York, 1964.
254. Fitzpatrick, F.A. and Siggia, S., "High-resolution liquid chromatography of derivatized non-ultraviolet absorbing hydroxy steroids", *Analytical Chemistry*, 45(14), 2310-2314, 1973.
255. Lehrfeld, J., "Separation of some perbenzoylated carbohydrates by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 120, 141-147, 1976.
256. Ingersoll, A.W. and Babcock, S.W. *Org. Syn. Coll.*, 2, 328, 1943.
257. Clark, C.R. and Wells, M.J.M., "Precolumn derivatization of amines for enhanced detectability in liquid chromatography", *J. Chromatogr. Sci.*, 16, 332, 1978.
258. Redmond, J.W. and Tseng, A., "High-pressure liquid chromatographic determination of putrescine, cadaverine, spermidine and spermine", *Journal of Chromatography*, 170, 479, 1979.
259. Flores, H.E. and Galston, A.W., "Analysis of polyamines in higher plants by HPLC", *Plant Physiol.*, 69, 701, 1982.



260. Roberts, D.R.; Walker, M.A. and Dumbroff, E.B., "Mass spectral determination of benzamide derivatives of polyamines separated by HPLC", *Phytochemistry*, 24, 1089, 1985.
261. Wells, M.J.M. and Clark, C.R., "Investigation of N-alkylbenzamides by reversed-phase liquid chromatography. V. Characteristics of some tertiary alkylbenzamides", *Journal of Chromatography*, 244, 231-240, 1982.
262. Wells, M.J.M. and Clark, C.R., "Investigation of N-alkylbenzamides by reversed-phase liquid chromatography. IV. The study of a homologous serie of N-alkylbenzamides using the solvophobic theory and molecular connectivity", *Journal of Chromatography*, 243, 263-277; 1982.
263. Wellons, S.L. and Carey, M.A., "High-performance liquid chromatographic separation and quantitation of polyfunctional amines as their m-toluoyl derivatives", *Journal of Chromatography*, 154, 219-225, 1978.
264. Cartoni, G.P.; Cavalli, A.; Giarruso, A.; Montanaro, M. e Rosati, F., "Identificazione di sostanza doping con la gas cromatografia e con la spettrometria di massa", *Medicina dello sport*, 28, 15-22, 1975.
265. Thoma, J.J.; Bondo, P.B. and Sunshine, I. (Editors), *Guidelines for Analytical Toxicology Programs*, vol. I, p. 169, CRC Press, Inc., USA, 1977.
266. Barreira, E.S.; Parente, J.P. e Alencar, J.W., "Novo teste para revelação de barbitúricos em cromatogra



- fia de partição em papel", XXVI Congresso Brasileiro de Química, 132, 1985.
267. Helen, R.S. and Milne, G.A.W., "EPA/NIH Mass Spectral Data Base", V.S. Government Printing Office, Washington D.C., 1978.
268. Barreira, E.S.; Parente, J.P. e Alencar, J.W., "Ácido hipúrico a partir da glicina", *Ciência e Cultura*, Supl. 38, 605, 1986.
269. THE MERCK INDEX; an encyclopedia of chemicals and drugs. 9.ed. Rahway, N.J. Merck, 1976, 618.
270. Stenhagen, E.; Abrahamson, S. and McLafferty, E.W., "Registry of Mass Spectral Data", J. Wiley & Sons, Inc. New York, N.Y., 1974.
271. Jatzkewitz, H.; Hoppe-Seylers, Z., *Physiol. Chem.*, 94, 272, 1953.
272. Deininger, R. *Arsneimittel-Forsch.*, 5, 472, 1955.
273. DBP 24 10033
274. Breiter, J. *J. Clin. Chem. Biochem.*, 14, 46, 1976.
275. Breiter, J.; Helger, R., *Z. Klin. Chem. Biochem.*, 13, 254, 1975.
276. Diagnostica Merck, EXTRELUT, nuevo procedimiento para la extracción de substancias lipófilas.
277. Cartoni, G.P. and Cavalli, A., "Detection of doping by thin-layer and gas chromatography", *Journal of Chromatography*, 37, 158-161, 1968.
278. Barreira, E.S.; Parente, J.P., and Alencar, J.W., "separa

tion and determination of aliphatic amines by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection", *Journal of Chromatography*, 398, 381-386, 1987.